



M 2018

Transmissão de oxigénio através de diferentes vedantes de vinho

Sofia Lima da Silva

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA
À FACULDADE DE ENGENHARIA DA UNIVERSIDADE DO PORTO EM
MESTRADO INTEGRADO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Mestrado Integrado em Engenharia Química

***Transmissão de oxigénio através de diferentes
vedantes de vinho***

Dissertação de Mestrado

de

Sofia Lima da Silva

Desenvolvida no âmbito da unidade curricular de Dissertação

realizado em

Amorim & Irmãos, S.A. - Investigação & Desenvolvimento



Orientador na FEUP: Prof. Doutora Margarida Bastos

Orientador na Amorim & Irmãos, S.A.: Prof. Doutor Miguel Cabral



Departamento de Engenharia Química

Julho de 2018

Agradecimentos

Ao longo deste projeto foram muitas as pessoas que contribuíram de uma forma positiva para a sua realização, e a quem não posso deixar de agradecer.

Em primeiro lugar, agradeço à empresa Amorim & Irmãos, S.A. pela oportunidade e por me ter permitido um primeiro contacto com o ambiente profissional, pelo financiamento e pelas condições disponibilizadas à realização deste projeto.

Dentro deste grupo o meu primeiro agradecimento é dirigido ao Professor Doutor Miguel Cabral pela oportunidade, pelas condições de trabalho proporcionadas, por todo o conhecimento transmitido e acima de tudo pela confiança depositada. Gostaria também de agradecer ao Doutor Paulo Lopes, que me acompanhou na evolução deste projeto, por todo o tempo disponibilizado, pelo apoio na resolução dos problemas e pela dedicação depositada neste trabalho. Um agradecimento ao José Pedro Machado pela ajuda e disponibilidade ao longo de todo o projeto. Às colaboradoras e colegas de trabalho do laboratório do Departamento de I&D, a Eng. Ana Malheiro, a Salomé Reis, a Andreia Oliveira, a Glória Espinheira, a Patrícia Oliveira, a Joaquina Laranjeira e a Rosa Castro quero agradecer por todo o conhecimento transmitido, todo o apoio laboratorial prestado, pela boa disposição e simpatia e pelo excelente ambiente de trabalho que me proporcionaram. Aos meus colegas de estágio, Ana Cruz, Nádia Ferreira e Wilson Pereira, que todos os dias me acompanharam, quero agradecer toda a paciência, companheirismo e amizade ao longo deste percurso. A todos colaboradores dos laboratórios da PortoCork e da Amorim Distribuição pela simpatia sempre demonstrada e pela disponibilidade no desenvolvimento deste projeto.

Em segundo lugar, agradeço à Professora Doutora Margarida Bastos por toda a ajuda, dedicação e preocupação ao longo de todo o trabalho desenvolvido, assim como a todos os Professores do Departamento de Engenharia Química da FEUP, por todo o conhecimento transmitido ao longo do curso.

Dirijo um agradecimento especial aos meus Pais, pilar fundamental ao longo de todo o meu percurso académico, pelo apoio incondicional, confiança e dedicação na minha formação. Às minha irmãs, Catarina e Clara, pela motivação, disponibilidade e paciência ao longo deste percurso.

Por último, agradeço a todos os meus amigos, que acompanharam este percurso, pelo companheirismo, apoio e incentivo em dar sempre o meu melhor e por toda a confiança depositada no meu trabalho.

A Prof. Margarida Bastos, orientadora desta dissertação, é membro integrado do LEPABE - Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente, Biotecnologia e Energia, financiado por:

Projeto POCI-01-0145-FEDER-006939 (Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente, Biotecnologia e Energia, UID/EQU/00511/2013) - financiado pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER), através do COMPETE2020 - Programa Operacional Competitividade e Internacionalização (POCI) e por fundos nacionais através da Fundação para a Ciência e a Tecnologia I.P.; Projeto “LEPABE-2-ECO-INNOVATION”, com a referência NORTE-01-0145-FEDER-000005, cofinanciado pelo Programa Operacional Regional do Norte (NORTE 2020), através do Portugal 2020 e do Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER).

Resumo

A transmissão de oxigénio é um parâmetro de extrema relevância para a maturação do vinho e, após engarrafamento é completamente dependente do tipo de vedante utilizado e das suas características estruturais. O presente projeto visa caraterizar a cinética e os mecanismos de transmissão de oxigénio de diferentes vedantes de vinho e verificar as vias de entrada de oxigénio em garrafas armazenadas num ambiente saturado com CO₂ industrial.

De forma a caraterizar a cinética de transmissão de oxigénio, foram utilizadas duas técnicas de medição diferentes (colorimetria e quimioluminescência). Ambos os métodos foram utilizados para estudar a transmissão de oxigénio através de rolhas técnicas (CWINE 1, CWINE 2 e CWINE 3 e DIAM 5, DIAM 10 e DIAM 30) e vedantes sintéticos (Nomacorc® Select Green 100 e Nomacorc® Reserva), tendo sido também empregue o método de colorimetria no estudo da viabilidade da adição de *scavengers* de oxigénio a rolhas técnicas.

Observou-se que o método de colorimetria é o que apresenta em média os valores mais baixos, apesar de incluir a entrada de oxigénio no momento de engarrafamento. A evolução da quantidade de oxigénio no interior das garrafas foi acompanhada através do desenvolvimento de modelos matemáticos capazes de prever a entrada de oxigénio através dos vedantes, ao longo do tempo.

Para caraterizar as vias de entrada de oxigénio em garrafas armazenadas num ambiente saturado com CO₂, foi analisado um barril, contendo garrafas vedadas com quatro diferentes tipos de vedantes, armazenado durante dois anos.

Os resultados obtidos demonstram não existirem diferenças na quantidade de oxigénio transmitido pelos diferentes vedantes.

Palavras-chave: cortiça, transmissão de oxigénio, rolhas de cortiça, vedantes sintéticos, colorimetria, quimioluminescência, razão isotópica.

Abstract

Oxygen transmission is an extremely important parameter for wine maturation and, after bottling, is completely dependent on the type of closure and its structure. The aim of this project is to characterize the kinetics and mechanisms of oxygen transmission, in different wine closures and to examine the oxygen entry routes in bottles stored in an industrial CO₂ saturated environment.

In order to characterize the kinetics of oxygen transmission, two different measurement techniques (colorimetry and chemiluminescence) were used. Both methods were used to study the transmission of oxygen through technical cork stoppers (CWINE 1, CWINE 2 and CWINE 3 and DIAM 5, DIAM 10 and DIAM 30) and synthetic closures (Nomacorc® Select Green 100 and Nomacorc® Reserva). The colorimetric method was also used in the feasibility study of adding oxygen scavengers to technical cork stoppers.

The colorimetric method showed the lowest average values, even though it includes the oxygen inlet at the time of bottling. The evolution of the amount of oxygen inside the bottles led to the development of mathematical models capable of predicting the entry of oxygen through the closures over time.

To characterize the oxygen inflow routes in bottles stored in a CO₂ saturated environment, a barrel containing bottles, sealed with four different types of closures, stored for two years, was analysed.

The results obtained showed that there were no differences in the amount of oxygen diffused through the different types of closures used.

Keywords: cork, oxygen transmission, cork stoppers, synthetic closures, colorimetry, chemiluminescence, isotope ration.

Declaração

Declara, sob compromisso de honra, que este trabalho é original e que todas as contribuições não originais foram devidamente referenciadas com identificação da fonte.

Porto, 2 de julho de 2018

(Sofia Lima da Silva)

Índice

1	Introdução.....	1
1.1	Enquadramento e Apresentação do Projeto	1
1.2	Apresentação da Empresa	1
1.3	A cortiça.....	2
1.4	Vedantes	3
1.5	Trinómio Vinho, Vedante, Garrafa	6
1.6	Contributos do Trabalho	7
1.7	Organização da Tese	8
2	Contexto e Estado da Arte	9
3	Descrição Técnica.....	15
3.1	Caracterização da cinética de transmissão de oxigénio através de diferentes vedantes	15
3.1.1	Materiais.....	15
3.1.1.1	Vedantes em estudo	15
3.1.1.2	Garrafas.....	16
3.1.2	Metodologia	16
3.1.2.1	Método de Colorimetria	16
3.1.2.2	Método de Quimioluminescência	20
3.1.3	Medições.....	22
3.1.4	Tratamento Estatístico.....	23
3.2	Migração de oxigénio através da cortiça	23
3.2.1	Materiais.....	23
3.2.1.1	Vedantes em Estudo	23
3.2.1.2	Garrafas.....	23
3.2.2	Metodologia	23
3.2.2.1	Razão Isotópica de Oxigénio.....	23
4	Resultados e Discussão.....	26

4.1	Caracterização da cinética de transmissão de oxigénio através de diferentes vedantes	26
4.1.1	Método de Colorimetria	26
4.1.2	Método de Quimioluminescência	32
4.1.3	Comparação da transmissão de oxigénio dos vedantes através de diferentes métodos....	37
4.2	Migração de oxigénio através da cortiça	42
5	Conclusões	45
6	Avaliação do Trabalho Realizado	46
6.1	Objetivos Realizados	46
6.2	Outros Trabalhos Realizados	46
6.3	Limitações e Trabalho Futuro	47
6.4	Apreciação Final	47
Anexo 1	Dados para a Calibração do Equipamento de Quimioluminescência	51
Anexo 2	Parâmetros Modelo Regressão Não Linear	52
Anexo 3	Desvio Relativo dos Modelos Teóricos em relação aos Pontos Experimentais .	54
Anexo 4	Calibração do Método de Colorimetria	55

Lista de Figuras

<i>Figura 1 - Rolhas comercializadas pela A&I (Amorim & Irmãos S.A., 2016).</i>	4
<i>Figura 2 - Vedantes alternativos às rolhas de cortiça: Vedantes sintéticos (Nomacorc, 2018) e Cápsulas de rosca (Vinodress Espanha, 2012).</i>	6
<i>Figura 3 - Vias de entrada de oxigénio ao longo do envelhecimento do vinho em garrafa (Silva et al., 2011).</i>	10
<i>Figura 4 - Evolução da quantidade de oxigénio, ao longo do tempo, em diferentes vedantes, adaptado de Lopes et al., 2005.</i>	13
<i>Figura 5 - Amostras em estudo: 1. Rolhas técnicas DIAM 5, DIAM 10 e DIAM 30; 2. Rolhas técnicas CWINE 1, CWINE 2 e CWINE 3; 3. Vedantes sintéticos Nomacorc® Select Green 100 e Nomacorc® Reserva; 4. Rolha técnica com scavengers de oxigénio e rolha técnica testemunha.</i>	16
<i>Figura 6 - A. Reação de redução do carmim de índigo pelo ditionato de sódio; B. Reação de oxidação do carmim de índigo reduzido pelo oxigénio (Lopes et al., 2005).</i>	17
<i>Figura 7 - Colorímetro utilizado na medição de oxigénio pelo método de colorimetria.</i>	17
<i>Figura 8 - Garrafa utilizada na calibração do método de colorimetria, com a solução aquosa de carmim de índigo.</i>	18
<i>Figura 9 - Procedimento de redução da solução de carmim de índigo (Lopes et al., 2005).</i>	18
<i>Figura 10 - Procedimento de oxidação da solução de carmim de índigo (Lopes et al., 2005).</i>	19
<i>Figura 11 - Exemplo de garrafas utilizadas no ensaio de engarrafamento pelo método de Colorimetria, realçando o gradiente de cor.</i>	19
<i>Figura 12 - Princípio da dinâmica de excitação de luminescência pelo oxigénio molecular: 1. Processo de luminescência na ausência de oxigénio; 2. Desativação da molécula indicadora de luminescência pelo oxigénio molecular (Huber et al., 2006).</i>	20
<i>Figura 13 - Equipamento utilizado na medição de oxigénio pelo método de quimioluminescência: 1. Equipamento; 2. Fibra ótica; 3. Sensor de temperatura.</i>	21
<i>Figura 14 - Exemplo de garrafas usadas no ensaio de engarrafamento pelo método de quimioluminescência, realçando os diferentes vedantes utilizados.</i>	22
<i>Figura 15 - 1. Flush de CO₂; 2. Disposição das garrafas; 3. Colocação dos tubos no barril.</i>	25
<i>Figura 16 - 1. Saturação da atmosfera dos barris; 2. "Teste da vela" para verificar a inexistência de oxigénio; 3. Barril fechado com pressão de 0,5 bar acima da pressão atmosférica.</i>	25
<i>Figura 17 - Curva de calibração do método de colorimetria: Relação entre a luminosidade e a massa de oxigénio atmosférico injetado.</i>	26
<i>Figura 18 - Cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas CWINE e DIAM para o método de colorimetria, ao longo do tempo de conservação.</i>	27

<i>Figura 19 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas CWINE 1, para o método de colorimetria.</i>	<i>28</i>
<i>Figura 20 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas CWINE 2, para o método de colorimetria.</i>	<i>28</i>
<i>Figura 21 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas CWINE 3, para o método de colorimetria.</i>	<i>29</i>
<i>Figura 22 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas DIAM 5, para o método de colorimetria.</i>	<i>29</i>
<i>Figura 23 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas DIAM 10, para o método de colorimetria.</i>	<i>29</i>
<i>Figura 24 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas DIAM 30, para o método de colorimetria.</i>	<i>30</i>
<i>Figura 25 - Cinética de transmissão de oxigénio através dos vedantes Nomacorc® Select Green 100 e Nomacorc® Reserva para o método de colorimetria, durante o primeiro ensaio realizado.</i>	<i>30</i>
<i>Figura 26 - Cinética de transmissão de oxigénio através dos vedantes Nomacorc® Select Green 100 e Nomacorc® Reserva para o método de colorimetria, ao longo do tempo de conservação.</i>	<i>31</i>
<i>Figura 27 - Cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas técnicas com scavengers de oxigénio e rolhas testemunha, para o método de colorimetria, ao longo do tempo de conservação.</i>	<i>31</i>
<i>Figura 28 - Cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas CWINE e DIAM para o método de quimioluminescência, ao longo do tempo de conservação.</i>	<i>33</i>
<i>Figura 29 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas CWINE 1, para o método de quimioluminescência.</i>	<i>34</i>
<i>Figura 30 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas CWINE 2, para o método de quimioluminescência.</i>	<i>34</i>
<i>Figura 31 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas CWINE 3, para o método de quimioluminescência.</i>	<i>34</i>
<i>Figura 32 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas DIAM 5, para o método de quimioluminescência.</i>	<i>35</i>
<i>Figura 33 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas DIAM 10, para o método de quimioluminescência.</i>	<i>35</i>
<i>Figura 34 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas DIAM 30, para o método de quimioluminescência.</i>	<i>35</i>
<i>Figura 35 - Cinética de transmissão de oxigénio através dos vedantes Nomacorc® Select Green 100 e Nomacorc® Reserva para o método de quimioluminescência, ao longo do tempo de conservação.</i>	<i>36</i>

<i>Figura 36 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através dos vedantes Nomacorc® Select Green 100, para o método de quimioluminescência.</i>	<i>37</i>
<i>Figura 37 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através dos vedantes Nomacorc® Reserva, para o método de quimioluminescência.</i>	<i>37</i>
<i>Figura 38 - Modelos matemáticos preditivos das cinéticas de transmissão de oxigénio do ensaio de colorimetria e de quimioluminescência, para as rolhas CWINE 1.</i>	<i>38</i>
<i>Figura 39 - Modelos matemáticos preditivos das cinéticas de transmissão de oxigénio do ensaio de colorimetria e de quimioluminescência, para as rolhas CWINE 2.</i>	<i>39</i>
<i>Figura 40 - Modelos matemáticos preditivos das cinéticas de transmissão de oxigénio do ensaio de colorimetria e de quimioluminescência, para as rolhas CWINE 3.</i>	<i>39</i>
<i>Figura 41 - Modelos matemáticos preditivos das cinéticas de transmissão de oxigénio do ensaio de colorimetria e de quimioluminescência, para as rolhas DIAM 5.</i>	<i>40</i>
<i>Figura 42 - Modelos matemáticos preditivos das cinéticas de transmissão de oxigénio do ensaio de colorimetria e de quimioluminescência, para as rolhas DIAM 10.</i>	<i>40</i>
<i>Figura 43 - Modelos matemáticos preditivos das cinéticas de transmissão de oxigénio do ensaio de colorimetria e de quimioluminescência, para as rolhas DIAM 30.</i>	<i>41</i>
<i>Figura 44 - Relação isotópica de oxigénio relativa nas amostras do pré-teste 1.</i>	<i>42</i>
<i>Figura 45 - Relação isotópica de oxigénio relativa nas amostras do pré-teste 2.</i>	<i>43</i>
<i>Figura 46 - Relação isotópica de oxigénio relativa nas amostras retiradas do primeiro barril e amostras controlo, após dois anos de conservação.</i>	<i>43</i>
<i>Figura 47 - Valores médios de relação isotópica de oxigénio relativa das amostras presentes no barril e das amostras de controlo (as mesmas letras [A e B] dentro de cada gama de relação isotópica de oxigénio indicam a inexistência de diferenças estatisticamente significativas).</i>	<i>44</i>
<i>Figura A.4.1 - Curva de calibração do método de colorimetria utilizada no segundo ensaio de vedantes sintéticos e rolhas técnicas com scavengers de oxigénio.</i>	<i>55</i>

Lista de Tabelas

<i>Tabela 1 - Taxa de transferência de oxigénio, expressa em mg de oxigénio, por vedante e por ano, para diferentes tipos de vedantes usados no engarrafamento de vinho (Karbowski et al., 2009).</i>	<i>7</i>
<i>Tabela A.1.1 - Dados de calibração do equipamento de quimioluminescência, para os sensores PSt6..</i>	<i>51</i>
<i>Tabela A.2.1 - Parâmetros das equações dos modelos de regressão não linear.</i>	<i>52</i>
<i>Tabela A.2.2 - Parâmetros das equações dos modelos de regressão não linear.</i>	<i>53</i>
<i>Tabela A.3.1 - Desvios relativos dos modelos teóricos em relação aos pontos experimentais para os diferentes vedantes.</i>	<i>54</i>

Notação e Glossário

OD	Oxigénio dissolvido	mg
OHS	Oxigénio no <i>Headspace</i>	mg
OTR	Taxa de transferência de Oxigénio	mg/dia

Coordenadas de cor

a*	Saturação
b*	Tonalidade
L*	Luminosidade

Letras gregas

$\delta^{18}\text{O}$	Razão Isotópica de Oxigénio
-----------------------	-----------------------------

Lista de Siglas

A&I	Amorim & Irmãos, S.A.
APCOR	Associação Portuguesa de Cortiça
CF	Fluxo Contínuo
D ₅ -TCA	2,4,6-Tricloroanisol Deuterado
ECD	Detetor de Captura de Eletrões
FCUL	Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa
FEUP	Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto
GC	Cromatografia Gasosa
I&D	Investigação e Desenvolvimento
IRMS	Espetrometria de Massa de Razão Isotópica
MS	Espetrometria de Massa
PVC	Poli(Cloreto de vinilo)
PVDC	Poli(Cloreto de vinilideno)
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
S.A.	Sociedade Anónima
SPME	Microextração em Fase Sólida
TBA	2,4,6-Tribromoanisol
TCA	2,4,6-Tricloroanisol

1 Introdução

1.1 Enquadramento e Apresentação do Projeto

A transmissão de oxigénio através de vedantes é uma temática que tem vindo a ser fortemente estudada com o intuito de entender a influência do oxigénio na maturação do vinho e a contribuição das diferentes características dos vedantes para a sua harmoniosa oxigenação.

O presente projeto tem como objetivo estudar a cinética e os mecanismos de transmissão de oxigénio de diferentes vedantes. Para comparar o seu comportamento são utilizadas duas técnicas de medição, colorimetria e quimioluminescência. Além disso, é também estudado o efeito da adição de *scavengers* na transmissão de oxigénio de rolhas técnicas de cortiça, através da técnica de colorimetria.

De forma a compreender a influência dos mecanismos e vias de entrada de oxigénio em garrafas de vinho vedadas com diferentes vedantes, foi estudada a transmissão de oxigénio para o interior de garrafas armazenadas durante dois anos num ambiente saturado com CO₂ industrial.

1.2 Apresentação da Empresa

A Amorim & Irmãos, S.A., maior empresa produtora e fornecedora de rolhas de cortiça a nível mundial, teve a sua génese em 1870, pelas mãos de António Alves de Amorim, na região de produção de Vinho do Porto. Quatro gerações depois, e sendo líder mundial no setor, o nome Amorim conta já com várias subsidiárias, que fazem parte da Unidade de Negócios Rolhas, nos principais países produtores de vinho, desde o continente europeu, até à América do Sul, Austrália e África do Sul (Amorim & Irmãos S.A., 2016). Em 2017, contou com um aumento de vendas de 6,8 % em quantidade, atingindo as 4,7 mil milhões de unidades vendidas (Corticeira Amorim, 2018).

Em 1963, de forma a aproveitar os subprodutos da produção de rolhas de cortiça, e com vista a alcançar a liderança mundial na produção e exportação de produtos de cortiça, é criada a Corticeira Amorim S.G.P.S., S.A., uma empresa mais abrangente sob o lema “nem um só mercado, nem um só cliente, nem uma só divisa, nem um só produto” (Corticeira Amorim, 2015e).

A Corticeira Amorim, S.G.P.S., S.A., é hoje a maior empresa mundial de produtos de cortiça e uma das mais internacionais de todas as empresas portuguesas, estando distribuída por negócios em mais de 100 países, contando com 83 empresas, 30 unidades industriais e 248 principais agentes, espalhados por todos os continentes, em diversas unidades de negócio -

Matérias-Primas, Rolhas, Revestimentos, Isolamentos, e Aglomerados Compósitos (Amorim & Irmãos S.A., 2015).

Em 2017, as vendas da Corticeira Amorim registaram o melhor resultado de sempre, tendo-se atingido pela primeira vez os 700 milhões de euros, uma subida de 9,4 % face ao ano de 2016. O resultado líquido sofreu também um aumento, atingindo os 73 milhões de euros (Corticeira Amorim, 2018).

1.3 A cortiça

A cortiça, conhecida pelas suas excelentes características como vedante, é um material natural extraído do tronco e ramos do sobreiro (*Quercus suber L.*), segunda maior espécie florestal dominante em Portugal, ocupando uma área de 736 mil hectares e 23 % da floresta nacional. O sobreiro encontra-se maioritariamente a sul do país, estando 84 % da sua floresta nacional situada na zona Alentejana (APCOR, 2016).

Os montados de sobreiro, florestas situadas na bacia do Mediterrâneo Ocidental, assumem uma importância crucial para a economia e ecologia de vários países, como Portugal, Espanha, Marrocos e Argélia, os quais detêm cerca de 90 % da área de distribuição desta espécie (Corticeira Amorim, 2015c).

A produção mundial de cortiça ultrapassa as 201 mil toneladas, destacando-se Portugal, como líder com uma produção anual estimada em 100 mil toneladas, cerca de 49,6 % da produção mundial (APCOR, 2016).

O ciclo de vida da cortiça, enquanto matéria-prima, começa com a extração da casca aos sobreiros, sob a forma de peças semi-tubulares, geralmente entre maio e agosto. São precisos 25 anos para que um tronco de sobreiro comece a produzir cortiça, começando a partir de então a sua exploração industrial. Neste primeiro descortiçamento a cortiça é ainda irregular e dura, o que a torna muito difícil de trabalhar, sendo por isso utilizada para outras aplicações que não rolhas, como isolamentos, pavimentos e produtos para as áreas da construção, design, moda, saúde, e indústria aeroespacial (Corticeira Amorim, 2015a).

A cortiça obtida no segundo descortiçamento, ao fim de nove anos, ainda não é usada para a produção de rolhas. Apenas o terceiro descortiçamento, ao fim de mais nove anos, é que produz cortiça com as propriedades e a qualidade necessárias para a produção de rolhas, uma vez que já apresenta uma estrutura regular. A partir deste momento, o sobreiro fornecerá, de nove em nove anos cortiça de boa qualidade durante 150 a 200 anos (APCOR, 2015b).

As características desta matéria-prima tornam-na tão perfeita, que até hoje nenhum processo industrial ou tecnológico a conseguiu igualar. A nível macroscópico é um material leve, elástico e compressível, impermeável a gases e líquidos, isolante térmico e elétrico, de

baixa combustão, hipoalergénico, e em termos sensoriais, é bastante suave ao toque, com aromas associados aos compostos, fenólicos e voláteis, que fazem parte da sua estrutura, muito característicos (Corticeira Amorim, 2015b).

Microscopicamente, a cortiça é constituída por um tecido homogéneo de células de paredes finas, de aspeto alveolar, sem que haja espaços vazios entre elas. As células constituintes têm a forma de prismas retangulares, empacotados em colunas paralelas (Silva *et al.*, 2005). Em média existem cerca de 40 milhões de células em cada centímetro cúbico de cortiça e aproximadamente 800 milhões de células numa única rolha de cortiça (Corticeira Amorim, 2015a).

Esta matéria-prima é ainda constituída por inúmeros canais lenticulares, poros, ocos e de aspeto cilíndrico, que variam significativamente de acordo com os diferentes tipos de cortiça, e que influenciam a sua qualidade industrial (Karbowski *et al.*, 2009).

A composição química da cortiça é descrita na literatura como sendo relativamente variável, dependendo da sua origem geográfica, clima, condições do solo, genética, dimensões das árvores, idade e condições de crescimento (Silva *et al.*, 2005). No entanto, os seus principais constituintes são a suberina (33-50% (m/m)) e a lenhina (13-29% (m/m)), seguidos dos polissacáridos, dos taninos e dos ceróides. A suberina é uma rede macromolecular de poliésteres alifáticos, a partir da qual são formadas as paredes das células, tendo, portanto, um papel muito importante na retenção de água e como antimicrobiano (Karbowski *et al.*, 2009). Por sua vez, a lenhina possui funções de suporte e isolamento para os restantes componentes estruturais (Fortes *et al.*, 2004).

1.4 Vedantes

De entre todas as unidades de negócio da Corticeira Amorim, a unidade de negócio Rolhas de Cortiça da A&I é a mais importante e a que concentra uma maior produção.

A cortiça é, como vedante, a principal escolha das melhores caves do mundo, estando as rolhas de cortiça associadas a vinhos de boa qualidade. A A&I detém assim um diversificado portfólio de rolhas naturais, usufruindo de uma posição ímpar no fornecimento de rolhas para qualquer tipo de vinhos e de bebidas espirituosas (Corticeira Amorim, 2015d).

A rolha natural é a mais conceituada de todas as rolhas de cortiça e aquela que é utilizada para vedar os melhores vinhos, sendo esperada uma vedação perfeita ao longo de dezenas de anos. É obtida por brocagem a partir de uma peça única de cortiça retirada dos sobreiros (APCOR, 2015a).

A rolha colmatada (Acquamark®) é uma rolha de cortiça natural em que os seus poros são preenchidos exclusivamente com pó de cortiça resultante da retificação das rolhas naturais,

e cola à base de resinas naturais e borracha natural em meio aquoso. Este revestimento torna a rolha mais homogénea, melhorando o seu aspeto visual e a sua performance (APCOR, 2015a).

A rolha de champanhe (Spark[®]) é uma rolha concebida para vedar vinhos espumantes e vinhos gaseificados. Pode ser considerada uma rolha técnica, por ser produzida a partir de um corpo aglomerado, no qual, são aplicados dois discos de cortiça natural na extremidade que contacta com o vinho. É uma rolha com dimensões superiores às restantes para suportar as elevadas pressões existentes nas garrafas de vinhos com gás (APCOR, 2015a).

A rolha técnica (Neutrocork[®], Twin Top[®], Twin Top Evo[®], Advantec[®] e Helix[®]) é uma rolha concebida para vinhos de consumo rápido, em geral, num prazo de 2 a 3 anos, e é constituída por um corpo de cortiça aglomerado muito denso, com a possível colocação de discos de cortiça natural num ou em ambos os topos. É uma rolha quimicamente estável, homogénea e demonstra um comportamento excelente como vedante, evitando a oxidação prematura do vinho (APCOR, 2015a).

A rolha aglomerada, utilizada em vinhos de menor preço e de consumo rápido, até 24 meses de estágio na garrafa, é uma rolha homogénea fabricada a partir de granulados de cortiça provenientes da produção de rolhas naturais. Pode ser fabricada por moldagem individual ou por extrusão, utilizando uma substância aglutinadora para ligar os granulados de cortiça (APCOR, 2015a).

Por último, a rolha capsulada (Top Series[®]), é uma rolha de cortiça natural conjugada com uma cápsula de PVC, madeira, cerâmica, metal, vidro, ou outros materiais, com um design diferenciador. Este vedante é geralmente utilizado em vinhos licorosos ou em bebidas espirituosas, de consumo repartido (APCOR, 2015a). Na Figura 1 apresentam-se os tipos de rolha comercializados pela A&I.

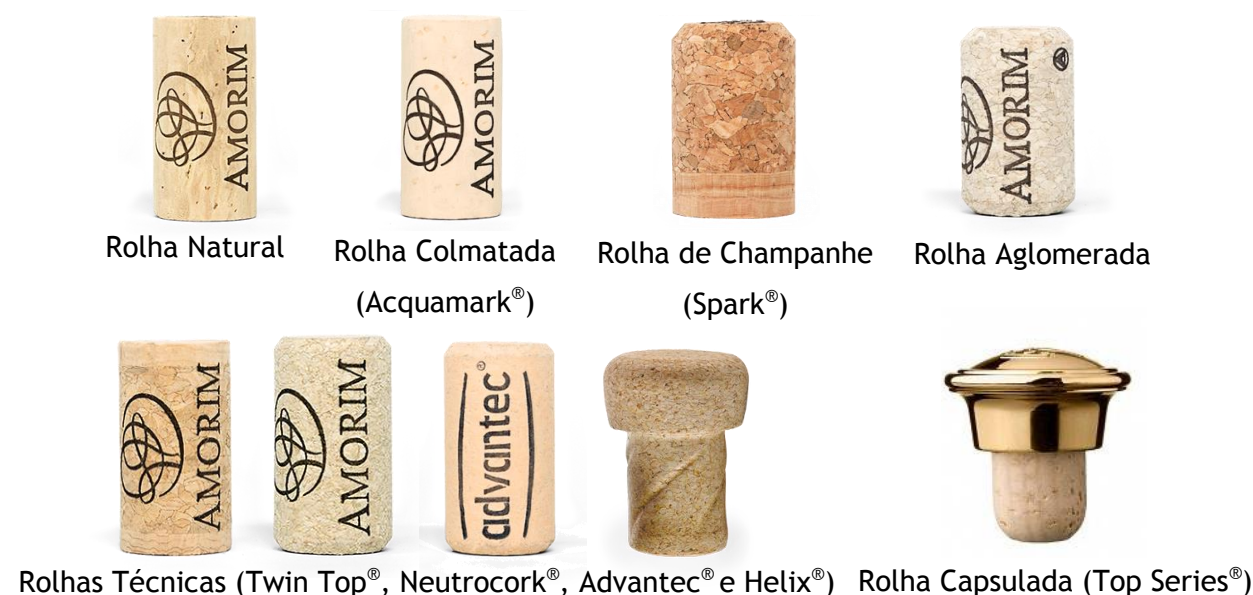


Figura 1 - Rolhas comercializadas pela A&I (Amorim & Irmãos S.A., 2016).

Outras empresas produtoras de rolhas de cortiça têm vindo a expandir o seu portfólio e a criar alternativas às rolhas produzidas pela A&I. A rolha técnica DIAM, comercializada pela empresa DIAM®, é constituída por um corpo de cortiça granulado e é produzida recorrendo à utilização de CO₂ supercrítico, de forma a remover todos os compostos que podem causar desvios sensoriais (DIAM, 2018).

Apesar das propriedades únicas que as rolhas de cortiça oferecem à indústria vinícola, e destas serem desde sempre o vedante preferencial dos melhores produtores de vinho do mundo, a partir da década de 90, desenvolveram-se novos tipos de vedantes artificiais - vedantes sintéticos e cápsulas de rosca - como resposta natural do mercado às dificuldades encontradas em controlar e padronizar as características estruturais, dimensionais e mecânicas das rolhas naturais, aliado aos problemas associados ao “gosto a mofo” que algumas rolhas naturais apresentavam (Silva et al, 2011).

O 2,4,6-Tricloroanisol (TCA) é responsável pelo aroma a mofo e muitas vezes está presente na cortiça. É um composto presente na natureza e que é exógeno ao vinho, à madeira e à rolha de cortiça, mas que presente na atmosfera pode ser facilmente absorvido pelas rolhas de cortiça (APCOR, 2015a).

Os vedantes sintéticos surgiram de forma a pôr fim aos problemas de contaminação por TCA das rolhas de cortiça, são produzidos por extrusão ou injeção de polímeros plásticos e devem ser capazes de garantir a inércia química e microbiológica (Silva *et al.*, 2011). Contudo, alguns estudos demonstram que os vinhos selados com este tipo de vedantes têm tendência para a perda dos seus aromas frutados e para a entrada constante e significativa de oxigénio na garrafa (Lopes *et al.*, 2009).

Os vedantes sintéticos Nomacorc®, constituídos por um núcleo de espuma e um material de revestimento externo, são produzidos através de uma tecnologia de co-extrusão, capaz de controlar a sua permeabilidade ao oxigénio e eliminar *off-flavours* provenientes de oxidação e redução do vinho e de odores eventualmente transmitidos pela rolhas de cortiça (Nomacorc, 2018).

As cápsulas de roscas tornaram-se populares na Austrália e na Nova Zelândia como vedantes de vinho, em particular vinho branco. Este vedante cria uma vedação hermética em redor da garrafa, não permitindo a entrada de oxigénio ao longo do tempo. O revestimento interno da tampa consiste geralmente num filme de Poli(Cloreto de vinilideno) (PVDC) de 19 µm em contacto com o vinho, uma camada de 20 µm de alumínio como barreira ao gás e um pedaço de 2 mm de polietileno para manter a compressão. Este tipo de vedantes apresenta como desvantagem a insuficiente difusão de oxigénio através da cápsula e o consequente desenvolvimento de aromas de redução durante o tempo de conservação em garrafa (Silva *et al.*, 2011). Na Figura 2 apresentam-se os vedantes alternativos às rolhas de cortiça.



Figura 2 - Vedantes alternativos às rolhas de cortiça: Vedantes sintéticos (Nomacorc, 2018) e Cápsulas de rosca (Vinodress Espanha, 2012).

1.5 Trinómio Vinho, Vedante, Garrafa

A embalagem desempenha um papel fundamental na qualidade dos alimentos, protegendo-os contra agentes ambientais, químicos e físicos. Hoje, muitas embalagens já contêm propriedades que mantêm uma atmosfera desejada, ajudando a melhorar a qualidade do produto. A garrafa de vidro, é desde sempre a forma mais tradicional de armazenar vinho. Como embalagem para bebidas alcoólicas tem nas dimensões dos gargalos o ponto mais crítico, na medida em que depende destas dimensões o bom ajuste do vedante e por consequência a eficácia da vedação. Além da embalagem, o vedante, como parte desta, tem como principal função garantir uma boa vedação a líquidos e gases, prevenindo a deterioração sensorial do vinho e proporcionando barreiras à humidade, oxigénio, dióxido de carbono e outros gases, bem como manter os sabores e aromas (Risch, 2009).

O oxigénio é um componente essencial na evolução da qualidade do vinho. Durante a produção e engarrafamento existem várias oportunidades de entrada de oxigénio na garrafa, mas após este processo a exposição ao oxigénio depende apenas do tipo de vedante e da sua eficiência (Lopes *et al.*, 2009).

Assim, diferentes tipos de vedantes conduzem a diferentes taxas de transferência de oxigénio, e influenciam de forma diferente o desenvolvimento do vinho (Godden *et al.*, 2005). Na Tabela 1 estão apresentadas as taxas de transferência de oxigénio para os diferentes tipos de vedantes.

Tabela 1 - Taxa de transferência de oxigénio, expressa em mg de oxigénio, por vedante e por ano, para diferentes tipos de vedantes usados no engarrafamento de vinho (Karbowski et al., 2009).

Tipo de vedante	OTR (mg O ₂ /vedante/ano) ¹
Rolha Natural	2,19 a 4,56
Rolha Aglomerada	0,09
Rolha Técnica (<i>Neutrocork</i> ®)	0,91
Rolha Técnica (<i>Twin Top</i> ®)	0,18
Rolha de Champanhe	0,31 a 0,99
Vedante sintético (<i>Nomacorc</i> ®)	7,76
Cápsula de Rosca	0,61

¹ Análise feita num período de 2 a 12 meses, à temperatura de 20 °C, com humidade relativa de 65 % e com um gradiente de O₂ entre 0 e 21 %, pelo método da colorimetria (exceto a cápsula de rosca que foi analisada durante 22 meses, por perda de SO₂, e para uma temperatura entre 13 e 31 °C).

Vários métodos têm vindo a ser desenvolvidos com o intuito de medir a quantidade de oxigénio ou oxidação das bebidas após engarrafamento. Os primeiros métodos implementados eram métodos destrutivos, uma vez que não era possível analisar uma garrafa sem comprometer o vedante. Mais recentemente foram desenvolvidos métodos não-destrutivos, método de colorimetria e de quimioluminescência, que permitem acompanhar a evolução da transmissão de oxigénio para o vinho sem que os vedantes sejam danificados (Lopes *et al.*, 2005).

1.6 Contributos do Trabalho

O departamento de Investigação & Desenvolvimento da A&I tem um papel sólido na estratégia global da empresa proporcionando a inovação de processos e produtos que conduzem a uma melhor compreensão das propriedades da cortiça e a sua interação com o vinho. Aliado ao problema da erradicação do 2,4,6-Tricloroanisol (TCA) e à melhoria da qualidade sensorial das rolhas de cortiça, o departamento de I&D desenvolve projetos na área da interação rolha/vinho e em particular da transmissão de oxigénio através de diferentes vedantes.

Este projeto visa caracterizar a transmissão de oxigénio de diferentes vedantes, com base em duas técnicas de medição diferentes, a colorimetria e a quimioluminescência. O departamento de I&D faz vigilância tecnológica aos produtos concorrentes que chegam ao mercado bem como ao desempenho dos seus produtos, determinando, entre outros, a taxa de transmissão de oxigénio. Paralelamente, estuda as vias de entrada do oxigénio em garrafa para o que, neste projeto, recorreu a CO₂ industrial.

1.7 Organização da Tese

A presente tese encontra-se organizada em sete capítulos.

No primeiro capítulo começa-se por fazer um breve enquadramento e apresentação do projeto, assim como uma introdução à empresa Amorim & Irmãos, S.A., na qual foi desenvolvido o projeto. Além disso, faz-se referência à matéria-prima utilizada, aos respetivos produtos e à temática do oxigénio, na sua relação com o vedante e o vinho.

No segundo capítulo fez-se o estado de arte dos efeitos do oxigénio para o vinho, a caracterização dos métodos desenvolvidos para estudo da transmissão de oxigénio e uma análise dos resultados obtidos por vários estudos já realizados sobre este tema, assim como os propósitos que levaram ao desenvolvimento deste projeto.

No terceiro capítulo descreve-se todo o procedimento experimental desenvolvido ao longo do projeto, bem como os materiais e métodos utilizados, os diferentes ensaios realizados e as respetivas condições operatórias.

No quarto capítulo apresentam-se os resultados obtidos em cada ensaio, assim como a discussão e comparação entre os métodos utilizados.

No quinto capítulo apresentam-se as principais conclusões do projeto.

No sexto capítulo avalia-se o trabalho realizado relativamente aos objetivos propostos, os trabalhos que foram realizados em paralelo, as limitações encontradas e as perspetivas para o trabalho futuro.

No sétimo capítulo listam-se todas as referências bibliográficas utilizadas.

2 Contexto e Estado da Arte

O oxigénio é um parâmetro chave no que diz respeito à evolução do vinho, sendo esta extremamente dependente da quantidade de oxigénio que recebe durante a vinificação e envelhecimento. Algumas das oportunidades de entrada de oxigénio para o vinho ocorrem durante as operações de transferência, no estágio em barril de madeira, na filtração e no processo de engarrafamento. Após este último um dos principais fatores que influencia a difusão de oxigénio para a garrafa é a eficácia do vedante (Lopes *et al.*, 2009).

Pasteur foi o primeiro a estudar o efeito do oxigénio no desenvolvimento do vinho, tendo afirmado, em 1873, que “l’ oxygène est le pire ennemi du vin” (o oxigénio é o maior inimigo do vinho), contudo “c’est l’oxygène qui fait le vin, c’est par son influence qu’il vieillit” (é o oxigénio que faz o vinho, é por sua influência que envelhece) (Pasteur, 1873). Atualmente, reconhece-se que a qualidade do vinho é geralmente prejudicada pela excessiva exposição ao oxigénio, mas uma oxigenação lenta e contínua pode ser benéfica para o seu envelhecimento (Lopes *et al.*, 2006).

A baixa oxigenação do vinho leva ao aparecimento de aromas a fruta fresca, mas também à formação de aromas de redução indesejáveis. Por outro lado, a presença de uma elevada quantidade de oxigénio pode levar à perda dos aromas frutados e ao desenvolvimento de aromas a frutos cozidos, juntamente com o aparecimento precoce de atributos oxidados indesejáveis. O impacto do oxigénio é tão dramático que um vinho exposto a diferentes quantidades de oxigénio pode resultar em produtos completamente distintos (O’Brien *et al.*, 2009).

Assim, diferentes tipos de vinhos necessitam de diferentes quantidades de oxigénio para o seu desenvolvimento. Antes do engarrafamento, a exposição do vinho tinto ao oxigénio, pode melhorar a sua qualidade através da remoção dos aromas indesejados, estabilizar a cor, através das reações fenólicas, e reduzir a adstringência (Kilmartin, 2009). Por outro lado, a qualidade do vinho branco é geralmente prejudicada pela exposição ao oxigénio, devido a mudanças nas qualidades sensoriais e cromáticas, levando à oxidação do vinho. A exposição excessiva ao oxigénio pode conduzir ao desenvolvimento de uma cor acastanhada, afetando negativamente o seu aspeto visual (Lopes *et al.*, 2005).

Em todos os casos, a ação do oxigénio depende não só do tipo de vinho e das suas propriedades intrínsecas, como também da eficácia do vedante. Apesar da garrafa de vidro ser um material inerte, o vedante não o é, e a sua permeabilidade pode levar à transferência de massa de pequenas moléculas, como, entre outras, oxigénio e água (Karbowski *et al.*, 2009).

Assim, após o engarrafamento, na etapa de maturação, a exposição ao oxigénio torna-se ainda mais importante. Tendo em conta as possíveis formas de entrada de oxigénio nesta etapa, os vedantes têm sido alvo de vários estudos de forma a perceber o seu impacto na maturação do vinho. Existem três formas de entrada de ar numa garrafa já selada (Figura 3): (1) entrada de oxigénio na garrafa através do vedante, (2) entrada de oxigénio na garrafa através da interface vedante/garrafa e (3) entrada de oxigénio do vedante para a garrafa, como consequência da compressão durante o engarrafamento (Silva *et al.*, 2011).

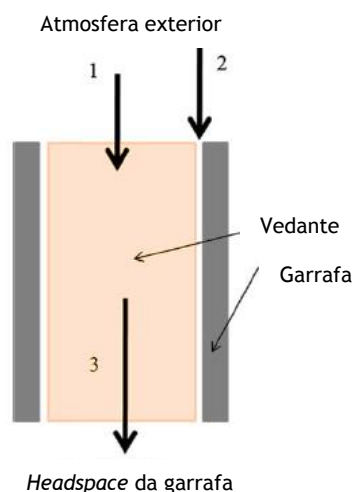


Figura 3 - Vias de entrada de oxigénio ao longo do envelhecimento do vinho em garrafa (Silva *et al.*, 2011).

Destas a mais relevante é a entrada de oxigénio resultante da compressão da rolha de cortiça durante o engarrafamento, sendo as outras consideradas quase sempre desprezáveis (Silva *et al.*, 2011). Desta forma, vários estudos têm vindo a ser desenvolvidos com o intuito de encontrar métodos de quantificação dos níveis de oxidação das bebidas após engarrafamento. Inicialmente desenvolveram-se técnicas como a medição do potencial de oxidação-redução, a medição de oxigénio dissolvido através de uma sonda polarográfica, a medição do oxigénio total numa garrafa utilizando um oxímetro, baseado na lei de Henry, e a medição da composição do gás no *headspace* da garrafa usando cromatografia gasosa. No entanto, todas estas técnicas são destrutivas em relação aos vedantes, ou seja, as garrafas não podem ser analisadas sem comprometer o vedante (Lopes *et al.*, 2005).

Mais recentemente foram desenvolvidos métodos não destrutivos que permitem estudar a cinética do oxigénio na garrafa ao longo do tempo, como a medição da absorvância em garrafas brancas ou de cor, e a medição do ácido acético nas garrafas de vinho por espetrometria de RMN de alta resolução (Brotto *et al.*, 2010). Estes métodos apesar de não destrutivos não medem diretamente os níveis de oxigénio. Além destes, o método de *Mocon*, baseado na medição da taxa de oxigénio usando um sensor colométrico e a monitorização da migração de oxigénio através de cromatografia gasosa, métodos também não destrutivos,

apenas podem ser aplicados a um número limitado de garrafas e só permitem medições a seco (em garrafas vazias), não podendo ser aplicados nas condições reais de engarrafamento de vinho (Brotto *et al.*, 2010).

Em 1933, Ribéreau-Gayon desenvolveu um método colorimétrico não destrutivo, baseado na mudança de cor que provém das reações de oxidação-redução do carmim de índigo, permitindo assim estudar a cinética de transmissão de oxigénio ao longo do tempo sem comprometer o vedante (Ribéreau-Gayon, 1933). A solução de carmim de índigo é adicionada às garrafas de vinho vazias, e de seguida é adicionada uma solução de ditionato de sódio de forma a reduzir a solução de carmim de índigo, tornando-a amarela. As garrafas são fechadas sob vácuo de forma a prevenir a entrada de oxigénio atmosférico. Ao longo do tempo de armazenamento, a entrada progressiva de oxigénio é monitorizada pela lenta oxidação do carmim de índigo que de amarelo no estado reduzido vai evoluindo até azul índigo no estado oxidado. Apesar de ser um método aplicável a nível industrial, apresenta como inconveniente o facto de não se conseguir discriminar com precisão a quantidade de oxigénio que entrou no momento do engarrafamento e aquele que é libertado pela rolha ao ser comprimida (Lopes *et al.*, 2005).

Mais recentemente surgiu o método de quimioluminescência, cujo princípio de medição se baseia na dinâmica de excitação de luminescência pelo oxigénio molecular. Este método utiliza sensores de oxigénio localizados na parede interna da garrafa e uma fibra ótica que contacta com estes sensores pela parede externa, permitindo uma medição não invasiva e eliminando as desvantagens dos métodos eletroquímicos. A fibra ótica fornece um pulso de excitação de luz fluorescente para o sensor localizado na garrafa, que após um curto período de tempo a reenvia de volta para o aparelho de medição. A medição de oxigénio é realizada através de uma relação que existe entre a concentração de oxigénio na garrafa e a intensidade e tempo de vida da luminescência (Huber *et al.*, 2006).

Este sistema inovador consegue medir a quantidade de oxigénio de forma contínua e não invasiva ao longo de um grande período de tempo, não interferindo com a embalagem e não consumindo oxigénio. Além disso é capaz de medir o oxigénio presente no *headspace*, assim como o dissolvido no líquido (OxySense, 2014).

De forma a testar a potencialidade destes métodos, vários autores têm vindo a desenvolver projetos que mostram a sua aplicabilidade aos vários tipos de vedantes presentes no mercado.

Um estudo realizado por Lopes *et al.* (2005) determinou, utilizando o método colorimétrico, as taxas de difusão de oxigénio nas garrafas após engarrafamento, para três diferentes tipos de vedantes: rolhas de cortiça natural (1ª classe e colmatada de 3ª classe), rolhas técnicas (Twin Top®, Neutrocork® e Aglomerada) e vedantes sintéticos (Nomacorc® e Supremecorq®). Os resultados mostraram que a cinética de difusão difere com o tipo de

vedante, apesar de todos terem uma taxa de difusão maior durante o primeiro mês de armazenamento. Assim, durante este mês a maioria dos vedantes obtém uma taxa de transferência de oxigénio entre 2 e 4 mg/L/mês, com exceção das rolhas Neutrocork®, que apresentam uma OTR de 1,4 mg/L/mês e dos vedantes sintéticos Supremecorq®, que apresentam uma OTR superior a 4 mg/L/mês. Após o primeiro mês de armazenamento, a taxa de transferência de oxigénio passou a apresentar valores muito distintos para os diferentes tipos de vedantes, mas todos inferiores aos obtidos no primeiro mês. No caso das rolhas de cortiça natural, ao final de um ano os valores estabilizam entre 0,24 e 0,50 mg/L/mês, as rolhas técnicas apresentam valores inferiores a 0,1 mg/L/mês e os vedantes sintéticos obtém uma OTR de 0,85 mg/L/mês para a Nomacorc® e 1,5 mg/L/mês para a Supremecorq®. Estes resultados comprovam que os vedantes sintéticos são permeáveis ao oxigénio, e que as rolhas naturais e técnicas são essencialmente impermeáveis, contudo devido à compressão das rolhas na garrafa, há libertação do oxigénio presente na sua estrutura alveolar, de forma mais significativa durante os momentos iniciais de armazenamento (Lopes *et al.*, 2005).

Em 2010, Vidal *et al.* estudaram a transferência de oxigénio por quimioluminescência através de dois tipos diferentes de cápsulas de rosca (Saranex e Saran) para garrafas de vinhos com solução de água pura acidificada com ácido clorídrico a pH de 1,5, a duas temperaturas distintas, 20 °C e 35 °C, durante 63 dias. Com este estudo concluiu-se que as cápsulas Saran proporcionam uma vedação sem consumo nem entrada de oxigénio, para ambas as temperaturas durante o tempo de armazenamento. Por outro lado, as cápsulas Saranex mostram um aumento da concentração de O₂ com o aumento da temperatura, obtendo-se valores de 2,6 e 4 µg/dia/garrafa para 20 °C e 35 °C, respetivamente (Vidal *et al.*, 2010).

Através do mesmo método, Diéval *et al.* (2011) estudaram a transmissão de oxigénio para garrafas vazias através de diferentes tipos de vedantes sintéticos da empresa Nomacorc® (Classic, Classic+ e Premium), durante 250 dias, tendo-se obtido uma OTR de 0,0222, 0,0337 e 0,0179 mL/dia para cada tipo de vedante, respetivamente (Diéval *et al.*, 2011).

Com base nos diversos estudos existentes, é possível comparar a transmissão de oxigénio dos diferentes vedantes, sob as mesmas condições (Figura 4).

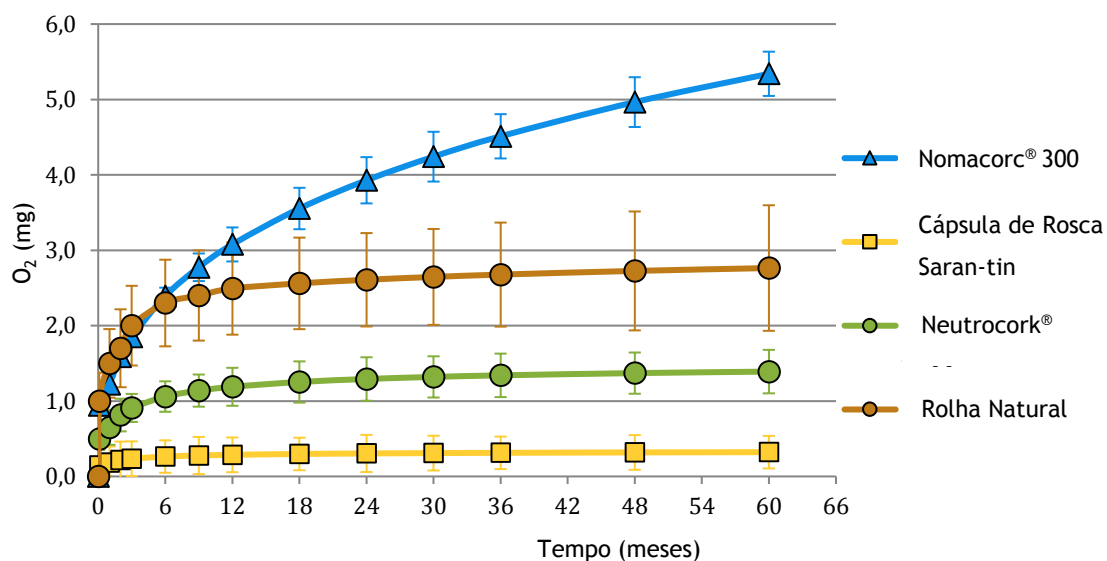


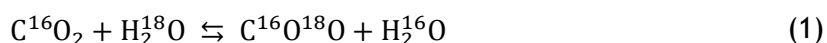
Figura 4 - Evolução da quantidade de oxigénio, ao longo do tempo, em diferentes vedantes, adaptado de Lopes et al., 2005.

Deste modo, os resultados obtidos nos diferentes estudos mostram que a cortiça é, como vedante, aquela que permite o desenvolvimento mais equilibrado dos vinhos em garrafa.

Assim sendo, e de forma a controlar a entrada de oxigénio, seria vantajoso a existência de rolhas de cortiça com uma OTR controlada, passível de produzir um tipo de rolhas associado a cada tipo de vinho. Uma forma de controlar a permeabilidade das rolhas passará pela utilização de *scavengers* de oxigénio, adicionados durante a produção de rolhas técnicas, juntamente com o granulado de cortiça e o aglomerante.

Scavengers de oxigénio são compostos incorporados em produtos que necessitam de uma atmosfera controlada com baixo teor de oxigénio, sendo principalmente usados na área alimentar e farmacêutica (Cooksey, 2010). Atualmente, podem ser encontrados diferentes tipos de sistemas de *scavenging* de oxigénio, desde compostos metálicos a não metálicos, como ácidos orgânicos e enzimas. Se adicionados às rolhas de cortiça, estes compostos seriam capazes de impedir a ação do oxigénio, preservar a cor e o aroma do vinho (Cichello, 2015).

Apesar de normalmente desprezável, a entrada de oxigénio exógeno em bebidas engarrafadas pode tornar-se um fator condicionante no envelhecimento do vinho. A razão isotópica do $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ do oxigénio pode ser estudada a partir da troca de oxigénio atómico presente em CO_2 , com base no equilíbrio dos isótopos de oxigénio entre CO_2 na fase gasosa e CO_2 dissolvido no vinho. Desta forma, o vinho engarrafado é fechado num ambiente contaminado com CO_2 industrial até que se atinja o equilíbrio entre este e as moléculas de H_2O presente na garrafa:



Uma vez atingido o equilíbrio a análise é feita por espetrometria de massa de razão isotópica de fluxo contínuo (CF-IRMS), onde a razão isotópica $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ é determinada por

comparação com o padrão de referência internacional V-SMOW (Viena Standard Mean Ocean Water) (OIV, 2009).

O departamento de I&D da A&I tem implementados ambos os métodos de determinação de OTR, o método colorimétrico e o de quimioluminescência, sendo estes usados para estudar a cinética de migração de oxigénio através dos vedantes. O principal objetivo deste trabalho é comparar a transmissão de oxigénio através de diferentes vedantes presentes no mercado utilizando ambos os métodos, e estudar a eficácia da aplicação de *scavengers* de oxigénio às rolhas de cortiça.

Para tal, pretende-se comparar dois tipos diferentes de rolhas de cortiça, as rolhas CWINE produzidas por uma empresa do Grupo Amorim e as rolhas DIAM produzidas por um concorrente. Cada tipo de rolha apresenta 3 diferentes permeabilidades ao oxigénio nomeadamente: CWINE 1 - 4,5 $\mu\text{L O}_2/\text{dia}$; CWINE 2 - 2,7 $\mu\text{L O}_2/\text{dia}$; CWINE 3 - 1,9 $\mu\text{L O}_2/\text{dia}$ (Trefinos, 2018) e DIAM 5 - 0,008 a 0,0019 $\text{cm}^3 \text{O}_2/\text{dia}$; DIAM 10 - 0,0004 $\text{cm}^3 \text{O}_2/\text{dia}$; DIAM 30 - 0,0004 $\text{cm}^3 \text{O}_2/\text{dia}$ (DIAM, 2018).

A viabilidade de aplicação de *scavengers* de oxigénio a rolhas de cortiça foi inicialmente estudada na tese *Desenvolvimento de rolhas de cortiça com transmissão de oxigénio controlada* (Carmo, 2017), onde foram desenvolvidas diferentes formulações de rolhas contendo *scavengers* de oxigénio, tendo inclusivamente sido feitas produções industriais daquelas formulações. Os melhores resultados na retenção de oxigénio foram obtidos pela combinação de dois tipos diferentes de scavengers: Irganox e Irgafos, com uma diminuição da OTR entre 16 e 47 %. Pretende-se assim confirmar os resultados obtidos neste trabalho.

Adicionalmente, o departamento de I&D da A&I juntamente com a Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa desenvolveram um projeto com o intuito de estudar a migração de oxigénio exógeno, utilizando barris saturados com uma corrente de CO_2 industrial, durante 12 anos. Neste trabalho pretende-se estudar os resultados obtidos ao fim de 2 anos.

3 Descrição Técnica

Neste capítulo apresenta-se o trabalho laboratorial desenvolvido, assim como uma explicação das técnicas de medição pelos métodos de colorimetria e de quimioluminescência, e o modo como todos os ensaios foram realizados. É também apresentada a técnica de medição utilizada no ensaio de migração de oxigénio exógeno para a cortiça.

3.1 Caracterização da cinética de transmissão de oxigénio através de diferentes vedantes

Ao longo deste projeto foram estudados dois métodos de medição da transmissão de oxigénio através de diferentes vedantes existentes no mercado. Para ambos os métodos colorimétrico e de quimioluminescência foram realizados dois ensaios de engarrafamento de forma a comparar a transmissão de oxigénio de diferentes vedantes.

3.1.1 Materiais

3.1.1.1 Vedantes em estudo

Para o estudo da transmissão de oxigénio por ambos os métodos foram utilizadas oito amostras diferentes de vedantes. Além destas foram ainda testados pelo método de colorimetria uma amostra de rolhas técnicas contendo dois tipos de *scavengers* de oxigénio em quantidades semelhantes, Irganox e Irgafos, e uma amostra de rolhas testemunha de forma a estudar a influência dos *scavengers* na transmissão de oxigénio (Figura 5):

- Amostra 1 - DIAM 5 - 47 x 24 mm;
- Amostra 2 - DIAM 10 - 47 x 24 mm;
- Amostra 3 - DIAM 30 - 49 x 24 mm;
- Amostra 4 - CWINE 1 - 44 x 24 mm;
- Amostra 5 - CWINE 2 - 44 x 24 mm;
- Amostra 6 - CWINE 3 - 44 x 24 mm;
- Amostra 7 - Nomaticorc® Select Green 100 - 44 x 23 mm;
- Amostra 8 - Nomaticorc® Reserva - 47 x 23,5 mm;
- Amostra 9 - Rolha técnica contendo *scavengers* de oxigénio - 38 x 24 mm;
- Amostra 10 - Rolha técnica testemunha - 38 x 24 mm.

Os vedantes DIAM e Nomaticorc® foram adquiridos junto de produtores de vinho utilizadores deste tipo de vedantes. As rolhas CWINE foram obtidas junto da empresa Trefinos® (Espanha).

As rolhas com *scavenger* de oxigénio e as rolhas testemunha foram produzidas em junho de 2017 na Amorim & Irmãos S.A., no âmbito da tese *Desenvolvimento de rolhas de cortiça com transmissão de oxigénio controlada* (Carmo, 2017), com recurso a uma moldadora piloto.

As rolhas testemunha utilizadas, foram rolhas microaglomeradas, enquanto que as rolhas contendo os *scavengers* resultaram de uma mistura de 100,40 g de granulado, 35,00 g de cola e 6,18 g de *scavengers*.



Figura 5 - Amostras em estudo: 1. Rolhas técnicas DIAM 5, DIAM 10 e DIAM 30; 2. Rolhas técnicas CWINE 1, CWINE 2 e CWINE 3; 3. Vedantes sintéticos Nomacorc® Select Green 100 e Nomacorc® Reserva; 4. Rolha técnica com *scavengers* de oxigénio e rolha técnica testemunha.

3.1.1.2 Garrafas

Neste trabalho foram utilizadas 96 garrafas de vidro transparentes do tipo bordalesa, com um volume de 375 mL, cujo nível de enchimento é cerca de 62 mm a partir da entrada do gargalo.

3.1.2 Metodologia

3.1.2.1 Método de Colorimetria

O método de colorimetria tem por base a mudança de cor proveniente das reações de oxidação-redução de um indicador, o carmim de índigo. Este indicador é inicialmente reduzido pelo ditionato de sódio, passando de azul a amarelo. A sua reoxidação dá-se com a entrada esporádica de oxigénio atmosférico, retornando a cor inicial. As reações de redução do carmim de índigo pelo ditionato de sódio e a oxidação do carmim de índigo reduzido pelo oxigénio atmosférico encontram-se representadas na Figura 6 (Lopes *et al.*, 2005).

Como se trata de um método não destrutivo, é possível analisar cada garrafa de um modo individual e sem comprometer as propriedades do vedante.

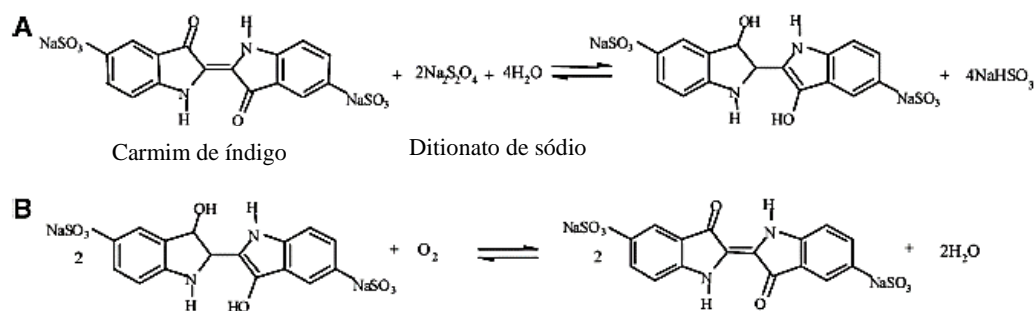


Figura 6 - A. Reação de redução do carmim de índigo pelo ditionato de sódio; B. Reação de oxidação do carmim de índigo reduzido pelo oxigénio (Lopes et al., 2005).

A mudança de cor obtida pelas reações de oxidação-redução foi analisada através do colorímetro KONICA MINOLTA CR-5 (Figura 7), utilizando um sistema de medição por espaço de cor denominado CIELab. Este aparelho mede três variáveis diferentes (L^* , a^* , b^*), sendo que a variável L^* corresponde à luminosidade, a^* à saturação e b^* à tonalidade da amostra em análise.



Figura 7 - Colorímetro utilizado na medição de oxigénio pelo método de colorimetria.

i. Preparação da solução para o engarrafamento

Prepararam-se no total 22 L de uma solução aquosa com uma concentração de 250 mg/L de carmim de índigo (agente oxidante) e 5 g/L de benzoato de sódio. Para tal, em balões volumétricos de 2 L foram dissolvidos, em água desionizada, $0,5000 \pm 0,0001$ g de carmim de índigo e 10 g de benzoato de sódio, tendo-se repetido a preparação da solução até obtido o volume final pretendido.

ii. Calibração do método de colorimetria

Para a calibração deste método foi necessária a utilização da solução aquosa inicial de carmim de índigo com benzoato de sódio previamente feita.

Inicialmente procedeu-se à redução da solução de carmim de índigo, utilizando uma garrafa de calibração (Figura 8) de 375 mL e contendo 2 aberturas.



Figura 8 - Garrafa utilizada na calibração do método de colorimetria, com a solução aquosa de carmim de índigo.

Encheu-se a garrafa com 350 mL da solução de carmim de índigo, e as aberturas foram fechadas. De forma a retirar todo o oxigénio presente na garrafa fez-se passar uma corrente de azoto puro a 0,5 bar durante 10 minutos. No fim deste período injetou-se a solução aquosa de ditionato de sódio ($0,0460 \pm 0,0001$ g em 20 mL de água desionizada, ou $0,0550 \pm 0,0001$ g numa segunda calibração realizada) conduzindo à mudança de cor de azul de índigo (solução oxidada) para amarelo (solução reduzida). O processo de redução efetuado encontra-se representado na Figura 9.

Após a redução do carmim de índigo procedeu-se às medições CIELab (L^* , a^* , b^*) em três pontos da garrafa, de forma a obter um valor médio. As medições foram feitas à temperatura ambiente ($19,3\text{ }^{\circ}\text{C}$).

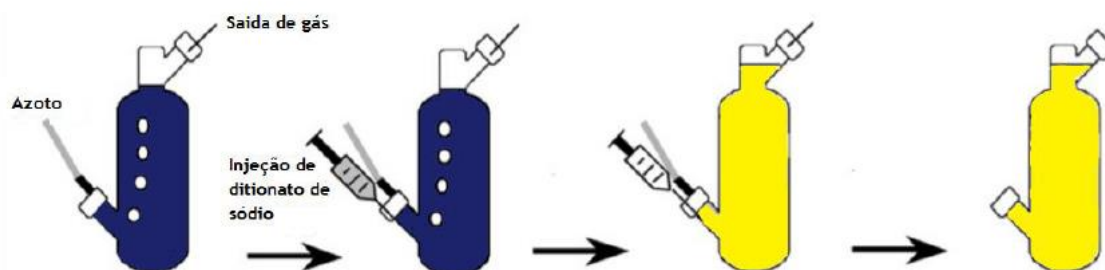


Figura 9 - Procedimento de redução da solução de carmim de índigo (Lopes et al., 2005).

Após a etapa de redução realizou-se a calibração da solução de carmim de índigo (Figura 10). Para isso injetou-se, com ajuda de uma seringa, pequenas quantidades de ar atmosférico (entre 0,7 e 1 mL) pela abertura lateral inferior da garrafa, de forma a oxidar a solução. Após retirar a seringa e a agulha, agitou-se a garrafa com vigor e manualmente durante 1 minuto de forma a homogeneizar a solução, seguindo-se um período de estabilização de 5 minutos. Posteriormente foram realizadas as medições de cor utilizando o sistema CIELab (L^* , a^* , b^*).

Este procedimento foi repetido até se dar a oxidação total da solução, ou seja, até à solução de carmim de índigo voltar à sua cor azul inicial, passando por uma gama de cores.

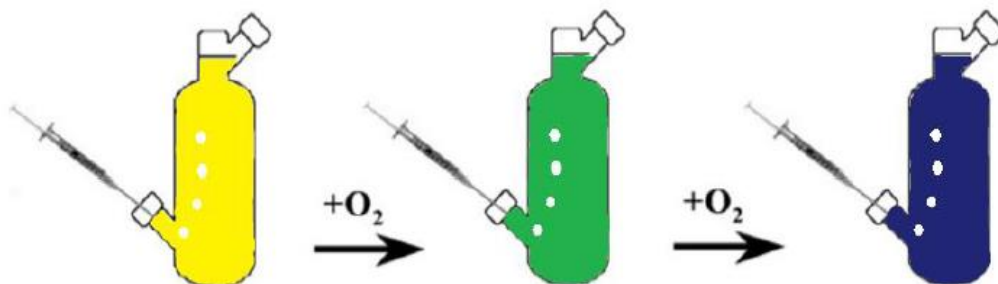


Figura 10 - Procedimento de oxidação da solução de carmim de índigo (Lopes et al., 2005).

iii. Engarrafamento e Conservação

Da solução mãe preparada previamente, foram colocados 350 mL em cada uma das 56 garrafas utilizadas neste ensaio. De seguida, e de modo a retirar todo o oxigénio presente no interior de cada garrafa, fez-se passar uma corrente de azoto puro a 0,8 bar durante 10 min. Após este período injetou-se 20 mL da solução aquosa de ditionato de sódio ($0,0460 \pm 0,0001$ g), promovendo a redução total da solução de carmim de índigo. Cada rolha foi posteriormente inserida na garrafa, sob vácuo, utilizando um rolhador semi-automático *Epsilon R/S* da Bertolaso.

Nestes ensaios foram utilizadas no total 56 garrafas, cinco de cada tipo de vedante: DIAM 5, DIAM 10, DIAM 30, CWINE 1, CWINE 2 e CWINE 3, Nomacorc® Select Green 100 e Nomacorc® Reserva; e oito rolhas contendo scavengers de oxigénio e testemunha (Figura 11).

As garrafas foram conservadas inicialmente em posição vertical e após a primeira medição de resultados em posição horizontal, à temperatura ambiente (21 °C).



Figura 11 - Exemplo de garrafas utilizadas no ensaio de engarrafamento pelo método de Colorimetria, realçando o gradiente de cor.

3.1.2.2 Método de Quimioluminescência

O método de quimioluminescência baseia-se na dinâmica de excitação de luminescência pelo oxigénio molecular (Figura 12). A colisão entre a luz emitida por uma fibra ótica no seu estado excitado e o oxigénio atmosférico resulta numa desativação do indicador na ausência de radiação, chamada de dinâmica de excitação. Durante a colisão, ocorre uma transferência de energia da molécula de indicador no estado excitado para o oxigénio, sendo este por consequência transferido do seu estado fundamental (estado tripleto) para o seu estado de singleto excitado. Como resultado, a molécula de indicador não emite luz e o total de sinal luminescente mensurável diminui (Huber *et al.*, 2006).

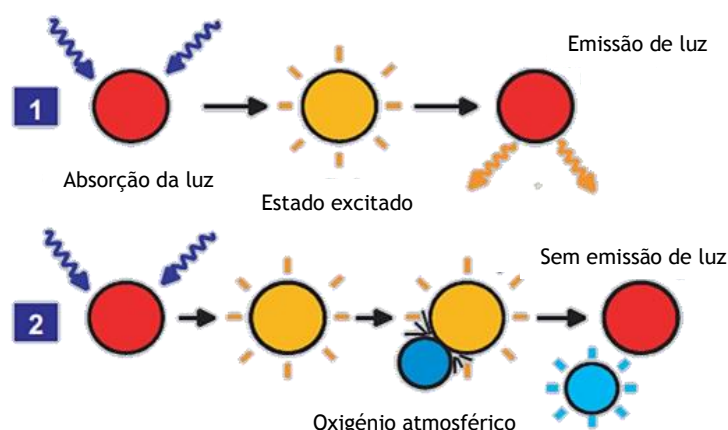


Figura 12 - Princípio da dinâmica de excitação de luminescência pelo oxigénio molecular: 1. Processo de luminescência na ausência de oxigénio; 2. Desativação da molécula indicadora de luminescência pelo oxigénio molecular (Huber *et al.*, 2006).

Esta técnica de medição utiliza sensores óticos que permitem quantificar a entrada de oxigénio de forma contínua, não destrutiva e sob condições reais durante um longo período de tempo. Estes sensores são colocados na parte interna da garrafa, e a fibra ótica contacta com eles pela parte externa, permitindo uma medição não invasiva, e sem entrada de oxigénio. O medidor de oxigénio utiliza uma fonte luminosa azul-esverdeada, com uma frequência de 4,5 kHz, para provocar a excitação molecular do oxigénio, sendo a fibra ótica utilizada como transdutor de sinal e condutor de luz. A medição de oxigénio é depois realizada através de uma relação que existe entre a concentração de oxigénio na garrafa e o tempo de vida da luminescência (Huber *et al.*, 2006).

O equipamento para medição de quimioluminescência utilizado neste projeto foi o Fibox 3 LCD - trace, representado na Figura 13.

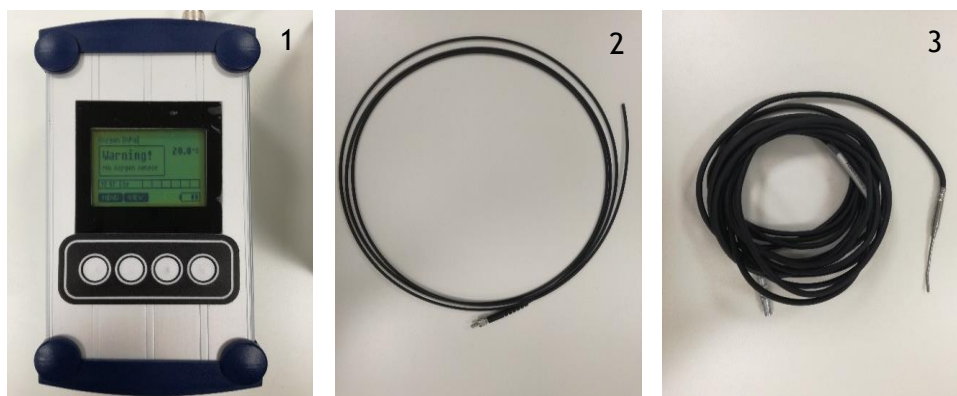


Figura 13 - Equipamento utilizado na medição de oxigénio pelo método de quimioluminescência: 1. Equipamento; 2. Fibra ótica; 3. Sensor de temperatura.

Os sensores óticos são capazes de medir tanto na fase gasosa (*headspace*) como na fase líquida, através de materiais transparentes até uma espessura de 10 mm e até mesmo através de materiais turvos. Para determinar a permeabilidade do vedante, os níveis de oxigénio gasoso ou dissolvido podem ser detetados em intervalos de partes por milhão (ppm) a partes por bilião (ppb) (Huber *et al.*, 2006).

Neste trabalho apenas foi utilizada a deteção de oxigénio na fase gasosa, visto os ensaios terem sido realizados com garrafas vazias.

i. Calibração do equipamento do método da quimioluminescência

Os sensores utilizados neste projeto foram as pastilhas do tipo PSt6, com pressão atmosférica de 965 hPa. O equipamento e os sensores utilizados foram previamente calibrados. Os dados referentes à calibração dos sensores PSt6 e do equipamento usado no método de quimioluminescência encontram-se no Anexo 1.

ii. Engarrafamento e Conservação

Nestes ensaios foram utilizadas garrafas vazias com um sensor PSt6 previamente colocado no seu interior (a 120 mm do topo do gargalo). De modo a retirar todo o oxigénio presente no interior das garrafas, fez-se passar uma corrente de azoto puro a 0,8 bar, até que o aparelho de medição de oxigénio detetasse uma presença de oxigénio inferior a 0,5 hPa. Após este período cada rolha foi inserida na garrafa, utilizando um rolhador semi-automático *Epsilon R/S* da *Bertolaso*. No total engarrafaram-se 40 garrafas, cinco de cada tipo de vedante: DIAM 5, DIAM 10, DIAM 30, CWINE 1, CWINE 2, CWINE 3, Nomacorc® Select Green 100 e Nomacorc® Reserva (Figura 14). As garrafas foram conservadas em posição horizontal e à temperatura ambiente (21 °C)



Figura 14 - Exemplo de garrafas usadas no ensaio de engarrafamento pelo método de quimioluminescência, realçando os diferentes vedantes utilizados.

3.1.3 Medições

Após engarrafamento, a conservação foi feita na horizontal e as medições periódicas foram realizadas no mesmo local sob as mesmas condições de armazenamento e à temperatura ambiente (21 °C).

No caso do método de colorimetria, as medições foram realizadas utilizando o sistema CIELab (L^* , a^* , b^*), tendo sido apenas tomados em consideração os valores de luminosidade (L^*), pois é através destes valores que se obtém uma correlação com a quantidade de oxigénio dissolvido na solução (OD). Em cada ponto de análise foram realizadas 4 medições em posições diferentes da garrafa, fazendo uma rotação de 90° entre cada uma, com a garrafa na posição vertical, sendo o valor final de L^* a média aritmética dos 4 valores obtidos. Os valores de L^* foram depois convertidos em massa de oxigénio (em mg) através da equação da reta de calibração.

A primeira medição foi realizada 3 dias após o engarrafamento, e as restantes medições com uma periodicidade semanal constante.

No caso da análise utilizando o método de quimioluminescência, e como as medições foram realizadas utilizando garrafas vazias, a quantidade de oxigénio presente no *headspace* da garrafa (OHS) foi obtida em hectoPascal (hPa), e posteriormente convertida para massa de oxigénio (em mg), através da equação dos gases perfeitos, utilizando os valores de temperatura obtidos em cada momento.

As medições foram feitas imediatamente antes e após o engarrafamento, nos primeiros dias de conservação seguindo uma periodicidade mais elevada e no restante tempo de conservação com uma periodicidade semanal constante.

3.1.4 Tratamento Estatístico

Todos os resultados obtidos nestes estudos foram tratados estatisticamente utilizando o *software* XLSTAT versão 2017.5.47467 acoplado ao *Microsoft Office Excel*, através de modelos de regressão não linear e análises de variância (ANOVA).

3.2 Migração de oxigénio através da cortiça

Este projeto iniciou-se em abril de 2016 e teve como objetivo estudar a migração de oxigénio exógeno para o interior de garrafas de vidro através da cortiça, recorrendo à utilização de CO₂ industrial, e paralelamente verificar a existência de migração de *off-flavours*. Para isso foram engarrafados diferentes tipos de vedantes, e as garrafas foram colocadas em seis barris utilizados na indústria cervejeira. A cada 2 anos, e durante 12 anos, será aberto um barril e analisadas as garrafas presentes no seu interior.

3.2.1 Materiais

3.2.1.1 Vedantes em Estudo

Neste trabalho foram utilizadas quatro amostras de diferentes vedantes:

- Amostra 1 - Natural Flor - 45x24 mm;
- Amostra 2 - Champanhe 2 discos Classe B;
- Amostra 3 - Nomaticorc Classic+;
- Amostra 4 - Cápsula de Rosca Saran.

As rolhas de cortiça Natural Flor e de Champanhe 2 discos Classe B foram obtidas na Amorim & Irmãos S.A. (Portugal). Os vedantes sintéticos Nomaticorc® e as cápsulas de rosca foram obtidos junto de produtores de vinho utilizadores deste tipo de rolhas.

3.2.1.2 Garrafas

As garrafas utilizadas foram diferentes consoante o tipo de rolha a utilizar. No caso da rolha de cortiça Natural, do vedante sintético Nomaticorc® e da cápsula de rosca foram utilizadas garrafas do tipo bordalesa, com um volume de 370 ± 5 mL. Para a rolha de Champanhe 2 discos Classe B foram utilizadas garrafas de champanhe, com um volume de 370 ± 5 mL.

3.2.2 Metodologia

3.2.2.1 Razão Isotópica de Oxigénio

O princípio assenta na existência de equilíbrio dos isótopos de oxigénio entre CO₂ da fase gasosa, CO₂ dissolvido e H₂O. É possível traçar o sinal isotópico do oxigénio a partir de CO₂

derivado de combustíveis fósseis numa garrafa contendo uma solução hidroalcoólica, desde que haja tempo suficiente para se estabelecer o equilíbrio (Equação 1) e para a passagem de CO₂ através da rolha.

Uma vez atingido o equilíbrio, a análise é feita por espetrometria de massa de razão isotópica de fluxo contínuo (CF-IRMS) e a razão isotópica $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ relativa (Equação 2) é determinada pela diferença entre a razão isotópica $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ da amostra e o valor padrão de referência internacional V-SMOW.

$$\delta^{18}\text{O}_{V\text{-SMOW}} (\text{‰}) = \frac{R_{\text{amostra}} - R_{\text{padrão}}}{R_{\text{padrão}}} \times 10^3 = \frac{\left(\frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}}\right)_{\text{amostra}} - \left(\frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}}\right)_{\text{padrão}}}{\left(\frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}}\right)_{\text{padrão}}} \times 10^3 \quad (2)$$

em que $\delta^{18}\text{O}_{V\text{-SMOW}}$ é a razão isotópica $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ relativa, R_{amostra} é a razão isotópica $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ da amostra e $R_{\text{padrão}}$ a razão isotópica $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ do padrão de referência internacional V-SMOW (OIV, 2009).

i. Pré-testes

Antes de realizar o ensaio de engarrafamento foram realizados dois pré-testes. Em janeiro de 2016 foram enviados três tubos contaminados com CO₂ na fase líquida para a FCUL para verificar se era possível detetar uma diferença da relação isotópica de O₁₈/O₁₆ face a três amostras de controlo. Em maio de 2016 foram enviadas para a FCUL três amostras que permaneceram durante um mês destapadas no interior de um barril saturado com CO₂ industrial, para verificar a existência de diferença da relação isotópica de oxigénio, face a três amostras de controlo.

ii. Ensaio de Engarrafamento

O ensaio de engarrafamento foi efetuado em julho de 2016. Encheram-se todas as garrafas com 370 mL de solução hidroalcoólica a 12 %, utilizando etanol absoluto de fermentação a 99,5 % (v/v), e cada rolha foi depois inserida na respetiva garrafa. Foram ainda guardados no frigorífico 6 tubos tapados com 18 mL de solução hidroalcoólica, por cada tempo de análise, para servirem de controlo.

iv. Preparação de Barris

O ensaio de preparação de barris teve início no dia 4 de julho de 2016. De forma a saturar a atmosfera dos barris fez-se um *flush* inicial de CO₂ (Figura 15.1). As garrafas já preparadas foram colocadas de forma homogénea no interior dos barris, e repartidas por fiada para evitar a influência da posição (Figura 15.2). Nos barris foram também colocados 6 tubos

destapados, suportados em pedaços de cortiça brocada, contendo 18 mL de solução hidroalcoólica, para servirem de controlo (Figura 15.3).



Figura 15 - 1. Flush de CO₂; 2. Disposição das garrafas; 3. Colocação dos tubos no barril.

À medida que se foram colocando as amostras nos barris foi-se saturando a atmosfera utilizando CO₂ industrial (Figura 16.1). Quando o barril já continha todas as garrafas pretendidas fez-se o “teste da vela” com recurso a um isqueiro para garantir a inexistência de oxigénio no interior dos barris (Figura 16.2). Fecharam-se os barris e introduziu-se CO₂ através da válvula exterior até se atingir uma pressão de 0,5 bar acima da pressão atmosférica (Figura 16.3). Os barris foram guardados à temperatura ambiente (22 °C) e cada barril será aberto a cada 2 anos, durante 12 anos.



Figura 16 - 1. Saturação da atmosfera dos barris; 2. “Teste da vela” para verificar a inexistência de oxigénio; 3. Barril fechado com pressão de 0,5 bar acima da pressão atmosférica.

v. Ensaio para análise de resultados após 2 anos de armazenamento

O primeiro barril foi aberto em março de 2018, após dois anos de armazenamento. Os 6 tubos destapados presentes no seu interior foram fechados e enviados juntamente com 6 dos tubos guardados no frigorífico e uma amostra da solução hidroalcoólica presente no interior de cada uma das 23 garrafas, presentes no barril, para a FCUL, de modo a ser estudada a migração de oxigénio exógeno para o interior das garrafas, pelo método da razão isotópica de oxigénio.

4 Resultados e Discussão

Ao longo deste projeto foram estudadas três tecnologias de transmissão de oxigénio através de vedantes. Assim, neste capítulo expõem-se os resultados obtidos em cada ensaio, assim como a sua discussão e comparação. Divide-se em dois subcapítulos, um referente à caracterização da cinética de transmissão de oxigénio através de diferentes vedantes, pelos métodos de colorimetria e de quimioluminescência e outro referente à migração de oxigénio exógeno através de cortiça pela técnica da razão isotópica de oxigénio.

4.1 Caracterização da cinética de transmissão de oxigénio através de diferentes vedantes

4.1.1 Método de Colorimetria

i. Calibração do método de Colorimetria

No processo de calibração, após injetadas pequenas quantidades de oxigénio e realizadas as medições de cor utilizando o sistema CIELab (L^* , a^* , b^*), traçou-se a curva que relaciona a quantidade de oxigénio em garrafa com os valores de L^* obtidos (Figura 17).

A pequena variabilidade apresentada na parte inicial da curva deve-se a quantidades residuais de ditionato de sódio (reductor), que foram adicionadas em excesso, e que consumiram preferencialmente o oxigénio injetado, não reagindo com carmim de índigo reduzido (Lopes *et al.*, 2005). Assim, a curva de calibração será apenas válida na gama de 1,1 a 5,0 mg de oxigénio.

Após o consumo do reagente em excesso, deu-se a oxidação da solução de carmim de índigo reduzida, que altera progressivamente a sua cor de amarelo até azul de índigo. A alteração de cor foi medida através das medições CIELab e particularmente do parâmetro L^* .

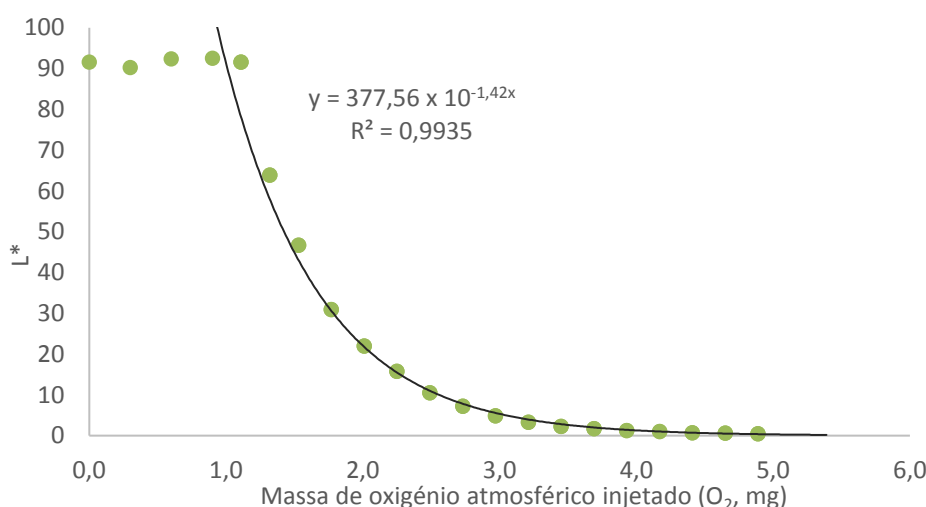


Figura 17 - Curva de calibração do método de colorimetria: Relação entre a luminosidade e a massa de oxigénio atmosférico injetado.

ii. *Transmissão de oxigénio de rolhas técnicas (CWINE e DIAM)*

A transmissão de oxigénio das rolhas CWINE e DIAM foi estudada utilizando o método de colorimetria ao longo de 38 dias (Figura 18), observando-se um elevado aumento da quantidade de oxigénio transmitida nos primeiros 3 dias de análise, devido em grande parte ao efeito do engarrafamento e à libertação de oxigénio do interior das rolhas (Lopes *et al.*, 2005). Após este período, há um aumento mais gradual da quantidade de oxigénio presente no interior das garrafas, fixando-se nos 2,5, 2,4 e 2,3 mg no final dos 38 dias de análise para as rolhas CWINE 1, CWINE 2 e CWINE 3, respetivamente. No caso das rolhas DIAM 5, DIAM 10 e DIAM 30 a transmissão foi de 2,5, 2,2 e 2,1 mg de oxigénio, respetivamente.

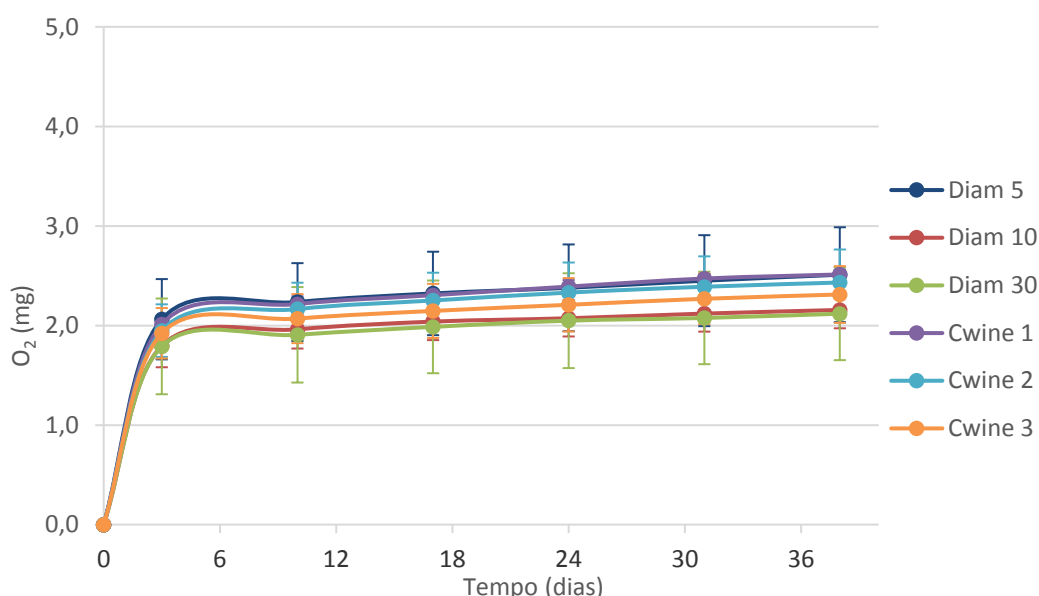


Figura 18 - Cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas CWINE e DIAM para o método de colorimetria, ao longo do tempo de conservação.

De modo a estimar a transmissão de oxigénio além do tempo de análise desenvolveu-se um modelo matemático utilizando o *software* XLSTAT 2017. Com base nos dados obtidos em cada ensaio estudou-se o modelo que melhor se ajustava a cada tipo de rolha, tendo-se obtido o modelo de regressão não linear representado pela equação 3:

$$y = P_{R1} + \frac{P_{R4} - P_{R1}}{1 + \frac{x^{P_{R2}}}{P_{R3}}} \quad (3)$$

Os parâmetros da equação de ajuste obtida para cada vedante encontram-se representados nas tabelas A.2.1 e A.2.2 do Anexo 2.

Os modelos teóricos preditivos das cinéticas de transmissão de oxigénio através destes vedantes foram baseados nos pontos experimentais até ao 31º dia de armazenamento (Figuras 19 a 24). O restante ponto de medição foi utilizado para validar o ajuste dos pontos

experimentais aos modelos, tendo-se obtido um desvio entre 1,9 % e 0,5 % entre os valores experimentais e os modelos teóricos.

Os desvios relativos dos modelos em relação aos pontos experimentais após ajuste encontram-se apresentados no Anexo 3.

Para este método de análise, os pontos ajustam-se perfeitamente aos modelos obtidos, mesmo com um período de análise mais curto. Após 12 meses, a previsão será que as garrafas vedadas com rolhas CWINE 1, CWINE 2 e CWINE 3 no ensaio de colorimetria tenham aproximadamente 2,9, 2,9 e 2,6 mg de oxigénio, respetivamente, enquanto que a transmissão de oxigénio ao final deste período será de 2,8, 2,4 e 2,4 mg, para o caso das rolhas DIAM 5, DIAM 10 e DIAM 30.

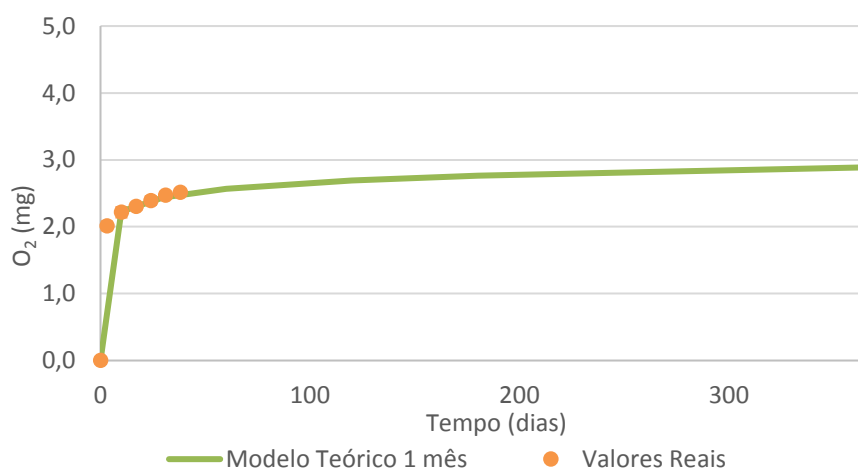


Figura 19 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas CWINE 1, para o método de colorimetria.

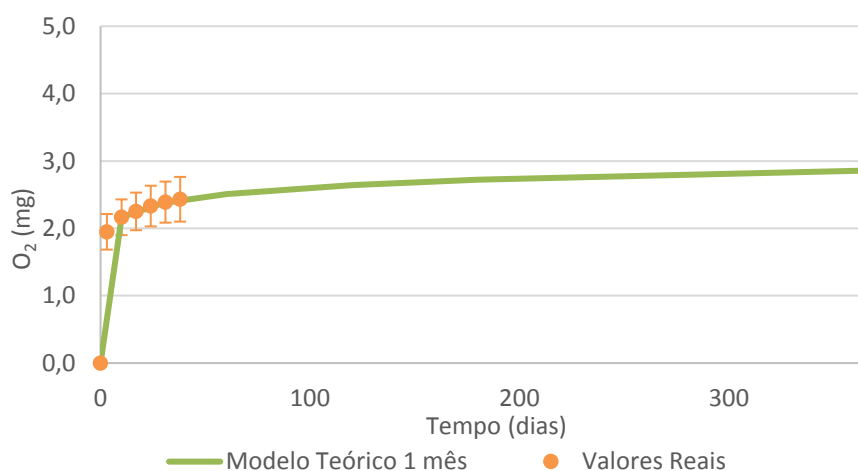


Figura 20 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas CWINE 2, para o método de colorimetria.

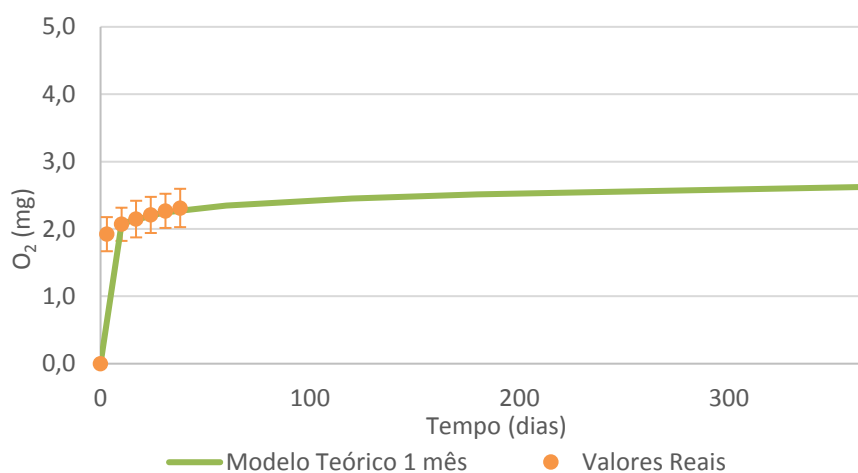


Figura 21 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas CWINE 3, para o método de colorimetria.

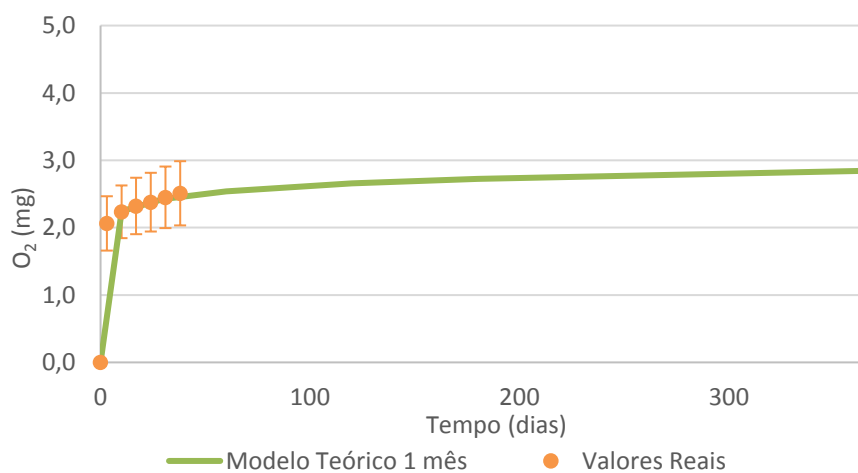


Figura 22 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas DIAM 5, para o método de colorimetria.

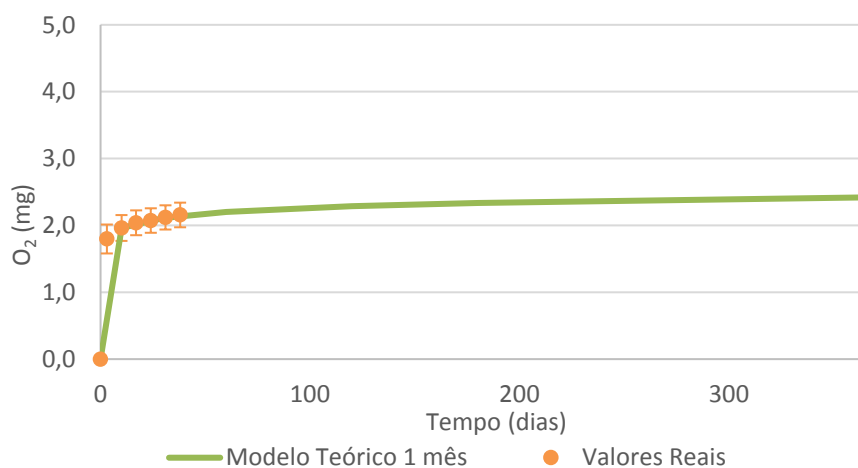


Figura 23 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas DIAM 10, para o método de colorimetria.

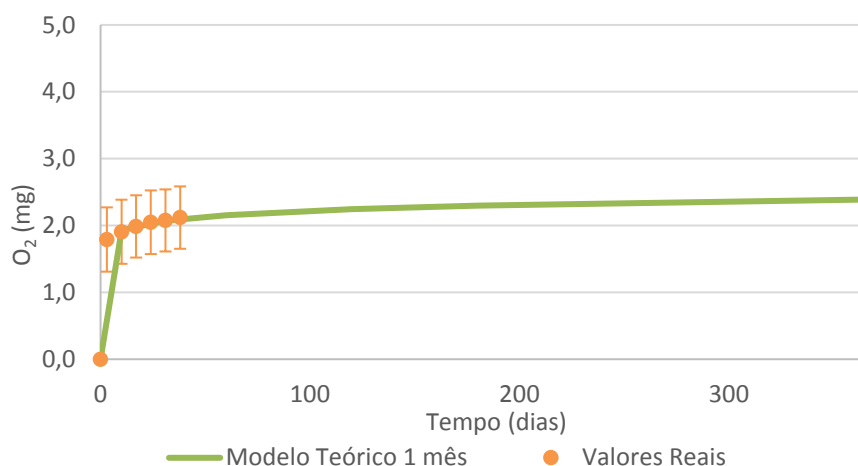


Figura 24 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas DIAM 30, para o método de colorimetria.

iii. Transmissão de oxigénio de vedantes sintéticos Nomacorc® (Select Green 100 e Reserva)

A transmissão de oxigénio dos vedantes Nomacorc® foi medida apenas ao longo de 7 dias (Figura 25), tendo ocorrido, ao final deste período, oxidação de maior parte da solução de carmim de índigo presente nas garrafas, reduzindo a gama de medição.

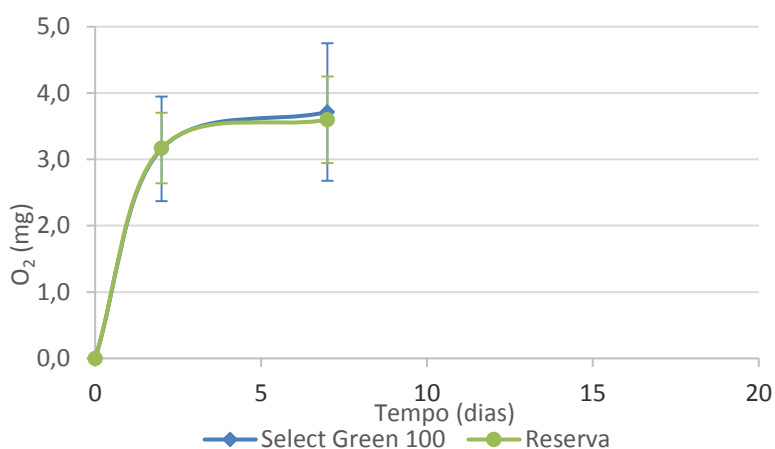


Figura 25 - Cinética de transmissão de oxigénio através dos vedantes Nomacorc® Select Green 100 e Nomacorc® Reserva para o método de colorimetria, durante o primeiro ensaio realizado.

Assim, realizou-se um segundo ensaio de engarrafamento, desta vez adicionando-se uma quantidade superior de redutor, de forma a reduzir em excesso a solução de carmim de índigo. Para tal foi necessário realizar uma nova calibração, adicionando-se $0,0550 \pm 0,0001$ g de ditionato de sódio em 20 mL de água desionizada. A curva de calibração encontra-se representada na Figura A.4.1 do Anexo 4.

Neste segundo ensaio, a transmissão de oxigénio foi medida ao longo de apenas 17 dias (Figura 26), não tendo havido tempo suficiente para ocorrer a oxidação total da solução de

carmim de índigo. Como o tempo de medição foi inferior a um mês e os resultados obtidos ainda estão sob influência do efeito de engarrafamento, muito predominante no método de colorimetria, não foi possível determinar os modelos preditivos das cinéticas de transmissão destes vedantes. No final dos 17 dias de análise, os vedantes Nomacorc® Select Green 100 e Nomacorc® Reserva obtiveram uma transmissão de respetivamente 2,0 e 1,9 mg de oxigénio, respetivamente.

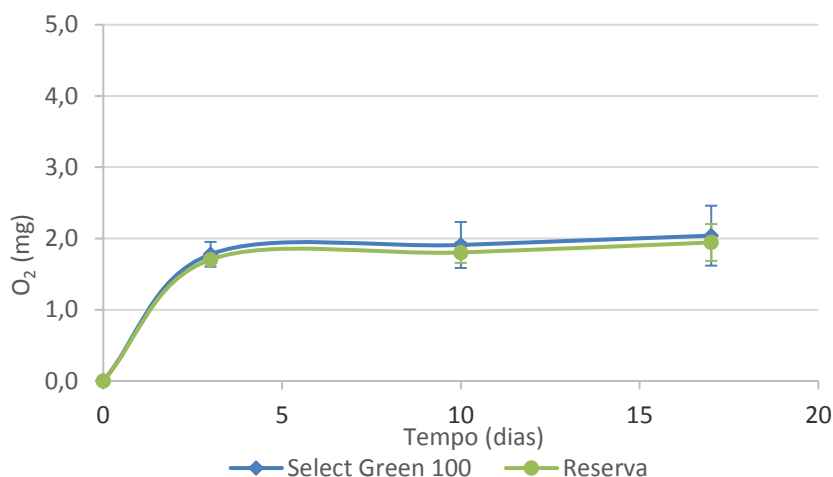


Figura 26 - Cinética de transmissão de oxigénio através dos vedantes Nomacorc® Select Green 100 e Nomacorc® Reserva para o método de colorimetria, ao longo do tempo de conservação.

iv. Transmissão de oxigénio de rolhas técnicas com scavengers de oxigénio

O efeito obtido no primeiro ensaio dos vedantes Nomacorc® foi também observado no ensaio das rolhas técnicas contendo *scavengers*. Assim, foi realizado um segundo ensaio, utilizando $0,0550 \pm 0,0001$ g de ditionato de sódio.

Ao longo de 17 dias foi analisada a transmissão de oxigénio através destas rolhas (Figura 27), não se tendo, uma vez mais, obtido a oxidação total da solução.

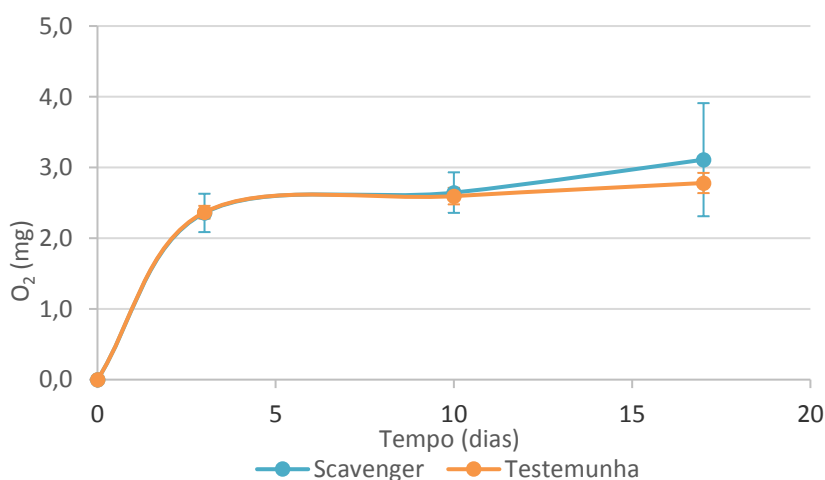


Figura 27 - Cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas técnicas com scavengers de oxigénio e rolhas testemunha, para o método de colorimetria, ao longo do tempo de conservação.

No final do tempo de análise as rolhas contendo os *scavengers*, Irganox e Irgafos, obtiveram uma transmissão de 3,1 mg de oxigénio, enquanto as rolhas testemunha (rolhas microaglomeradas produzidas sem *scavengers*), transferiram 2,8 mg de oxigénio.

Ao contrário do que seria de esperar pelos resultados da tese *Desenvolvimento de rolhas de cortiça com transmissão de oxigénio controlada* (Carmo, 2017), na qual se obteve uma redução da OTR entre os 16 e os 47 % para rolhas com estes tipos de *scavengers* de oxigénio, neste caso não ocorreram grandes diferenças entre vedantes, sendo mesmo as rolhas testemunha aquelas que transferem menos quantidade de oxigénio.

Este efeito pode dever-se à utilização de métodos diferentes, uma vez que no trabalho anterior foi utilizado o método de quimioluminescência em garrafas vazias e neste projeto a técnica de colorimetria, que apresenta condições mais próximas daquelas que seriam obtidas num caso real de engarrafamento de vinho. Além disso, as rolhas utilizadas foram produzidas em junho de 2017 e estiveram inutilizadas em contacto com o oxigénio durante dez meses, o que pode ter adulterando as suas propriedades.

Uma forma de verificar os resultados obtidos passa pela produção de novas rolhas e a repetição do ensaio.

4.1.2 Método de Quimioluminescência

Os ensaios pelo método da quimioluminescência foram realizados em garrafas vazias, sendo apenas determinado o oxigénio presente no *headspace* (OHS), correspondendo ao oxigénio total em garrafa.

i. Transmissão de oxigénio de rolhas técnicas (CWINE e DIAM)

A transmissão de oxigénio das rolhas técnicas através do método da quimioluminescência foi estudada ao longo de 105 dias (Figura 28), observando-se, tal como na colorimetria, uma elevada transmissão de oxigénio nos primeiros dias de análise, que vai diminuindo ao longo do tempo.

Relativamente à transmissão de oxigénio das rolhas DIAM 5, observa-se uma grande variabilidade na quantidade de oxigénio transmitida ao longo dos 105 dias de análise, fixando-se nos 6,8 mg no final deste período. Estes valores não se encontram dentro daquilo que seria de esperar para este tipo de vedantes, e podem dever-se a algum erro efetuado na etapa de engarrafamento. As rolhas técnicas DIAM 10 e DIAM 30 apresentam uma transmissão de oxigénio muito semelhante entre si fixando-se, respetivamente, nos 3,3 e 2,8 mg no final do tempo de conservação. A transmissão de oxigénio das rolhas CWINE, deu-se de uma forma lenta, e muito semelhante entre os três vedantes, verificando-se um aumento mais significativo nos primeiros

dias após o engarrafamento. No final do período de análise, as rolhas CWINE 1, CWINE 2 e CWINE 3 obtiveram uma transmissão de aproximadamente 1,9, 1,6 e 1,8 mg de oxigénio, respetivamente.

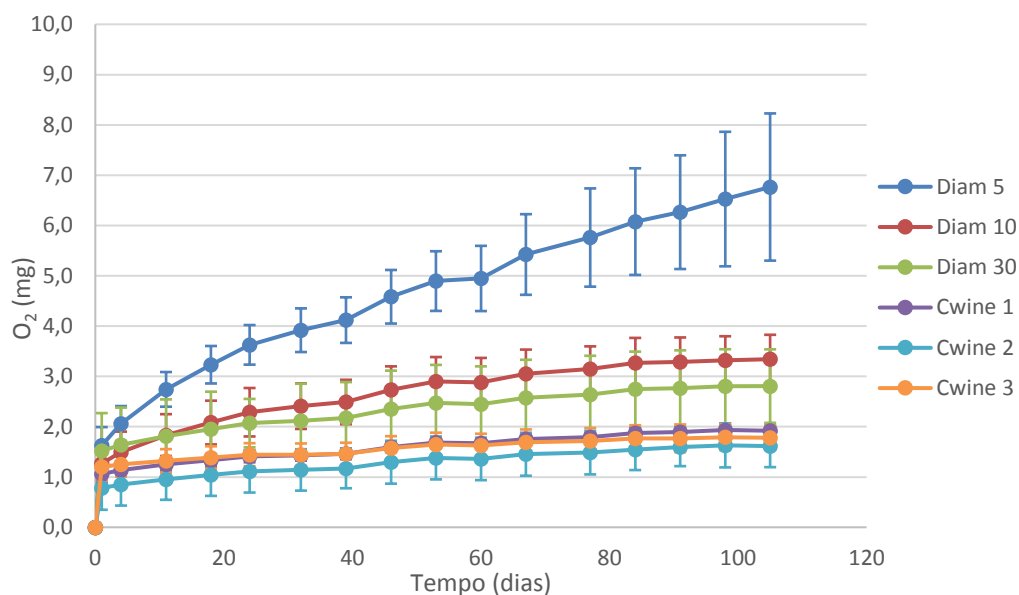


Figura 28 - Cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas CWINE e DIAM para o método de quimioluminescência, ao longo do tempo de conservação.

Para o desenvolvimento dos modelos preditivos das cinéticas de transmissão de oxigénio através destes vedantes foram utilizados todos os pontos de análise até ao 60º dia de conservação (Figuras 29 a 34). Os restantes pontos foram utilizados para avaliar se o modelo se adequava aos pontos experimentais. Após representação de todos os modelos observou-se um desvio entre os valores experimentais e os modelos teóricos, tendo-se reajustado os modelos com a inclusão de mais quatro pontos de medição, melhorando significativamente o ajustamento dos dados experimentais.

Após o desenvolvimento dos dois modelos matemáticos foi calculado o desvio relativo médio obtido pelos modelos em relação aos pontos experimentais. As rolhas DIAM 5, DIAM 10 e DIAM 30 obtiveram um desvio de 9,1 %, 2,7 % e 7,1%, respetivamente, em relação aos pontos experimentais, e as rolhas CWINE 1, CWINE 2 e CWINE 3 um desvio de 8,6 %, 9,4 % e 6,5 %, respetivamente. Os desvios relativos dos modelos em relação aos pontos experimentais após ajustes encontram-se apresentados no Anexo 3.

Após 12 meses, a previsão será que as garrafas vedadas com rolhas CWINE 1, CWINE 2 e CWINE 3 no ensaio da quimioluminescência tenham aproximadamente 2,2, 1,9 e 1,9 mg de oxigénio, respetivamente, enquanto que a transmissão de oxigénio no final deste período será de 9,9, 4,5 e 3,2 mg, para as DIAM 5, DIAM 10 e DIAM 30.

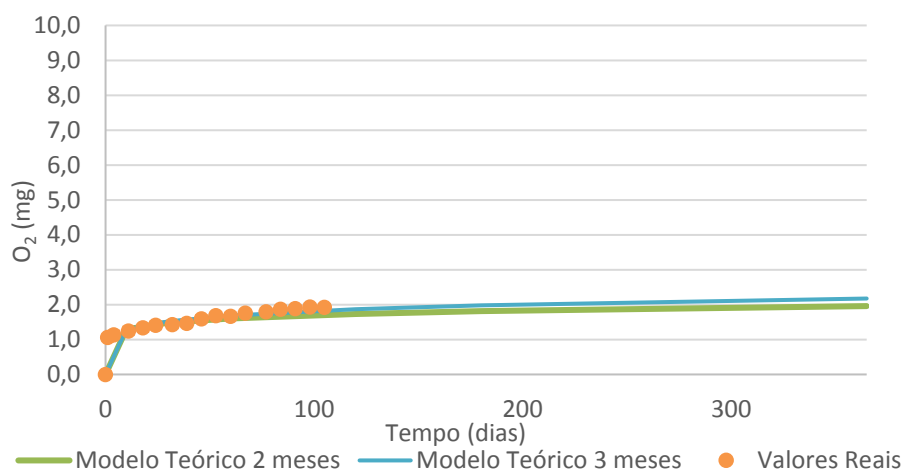


Figura 29 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas CWINE 1, para o método de quimioluminescência.

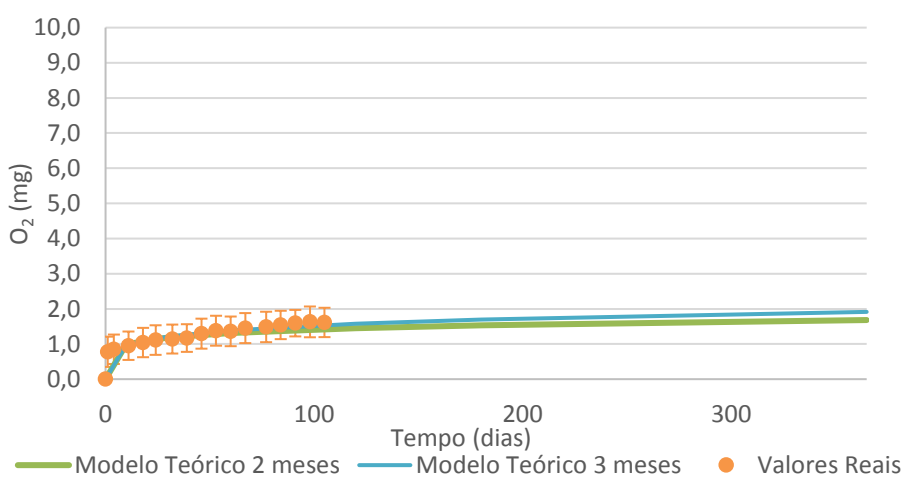


Figura 30 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas CWINE 2, para o método de quimioluminescência.

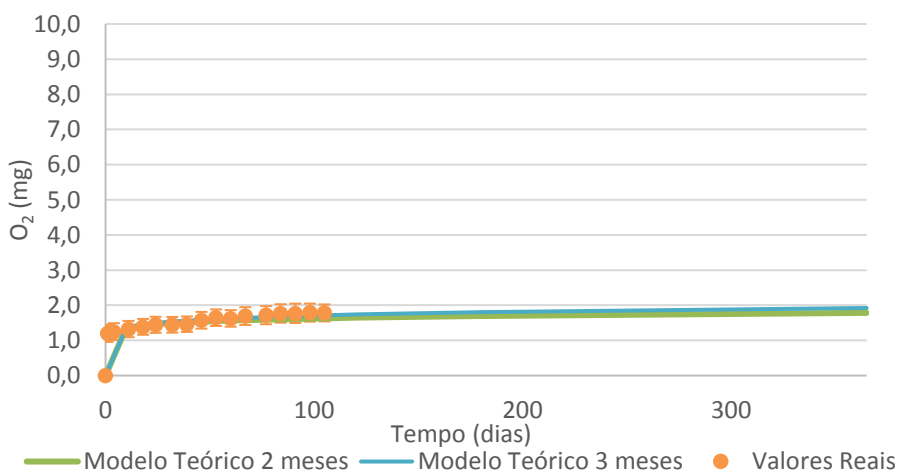


Figura 31 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas CWINE 3, para o método de quimioluminescência.

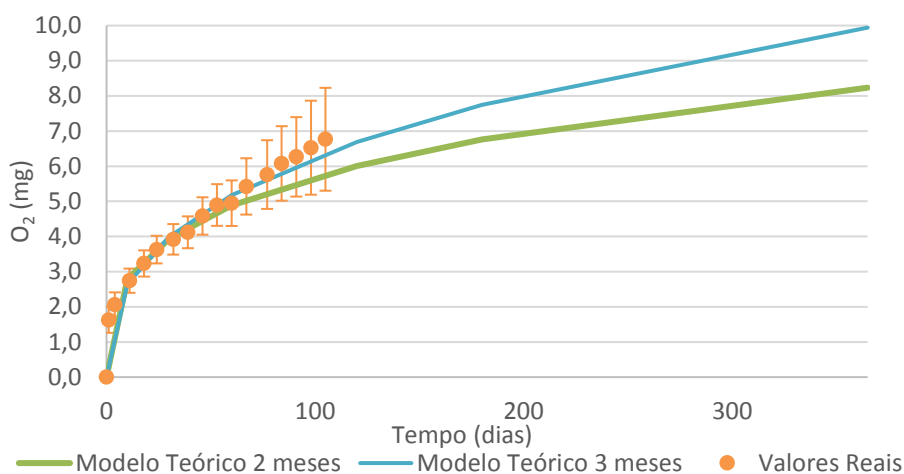


Figura 32 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas DIAM 5, para o método de quimioluminescência.

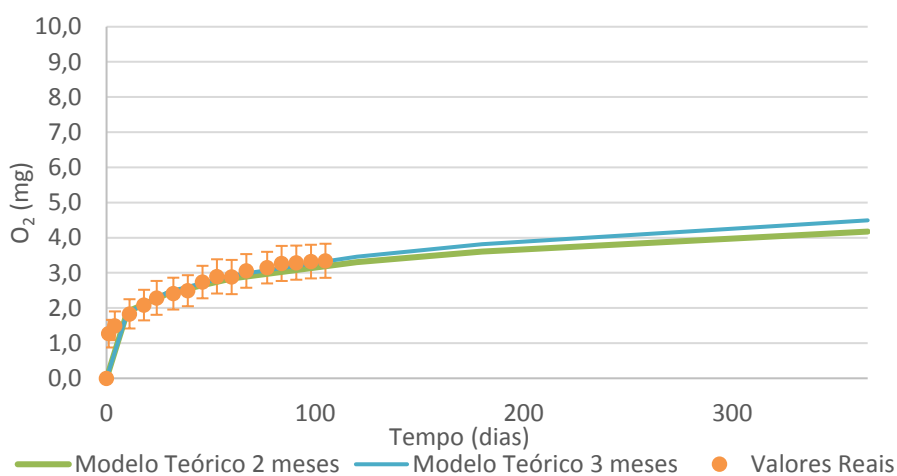


Figura 33 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas DIAM 10, para o método de quimioluminescência.

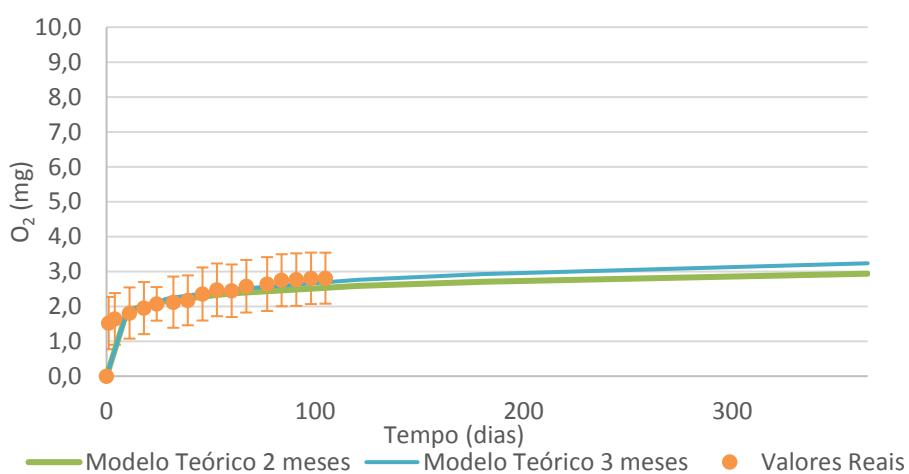


Figura 34 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através das rolhas DIAM 30, para o método de quimioluminescência.

ii. *Transmissão de oxigénio de vedantes sintéticos Nomaticorc® (Select Green 100 e Reserva)*

A transmissão de oxigénio nos vedantes Nomaticorc® deu-se, ao longo de 94 dias (Figura 35), de uma forma gradual não constante, apresentando uma grande variabilidade nos valores obtidos ao longo de todo o tempo de conservação. No final do tempo de análise obteve-se uma transmissão de 2,8 mg de oxigénio para o vedante Nomaticorc® Select Green 100 e 2,6 mg de oxigénio para o vedante Nomaticorc® Reserva.

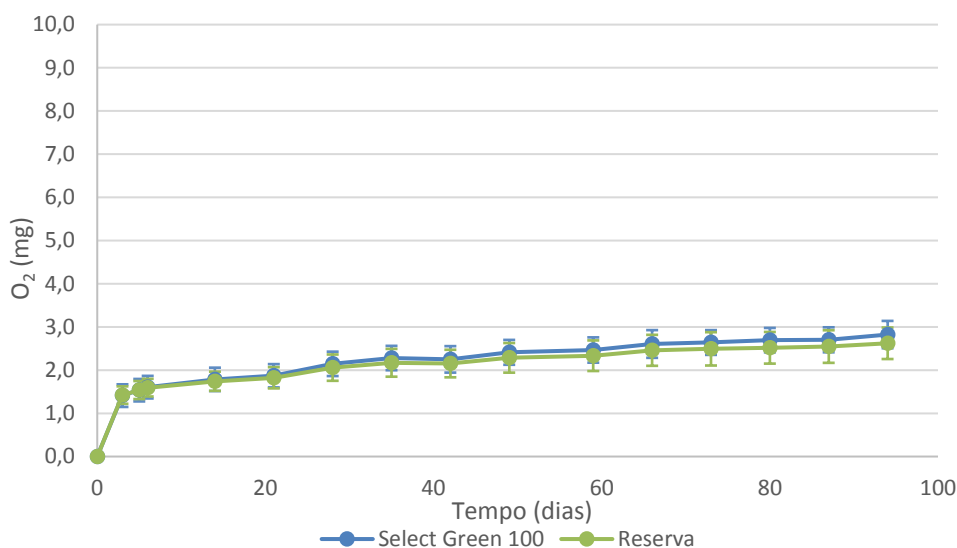


Figura 35 - Cinética de transmissão de oxigénio através dos vedantes Nomaticorc® Select Green 100 e Nomaticorc® Reserva para o método de quimioluminescência, ao longo do tempo de conservação.

Os modelos teóricos desenvolvidos neste ensaio, para prever a cinética de transmissão de oxigénio ao final 12 meses, foram baseados nos pontos experimentais até ao 66º dia de conservação, tendo os restantes pontos contribuído para a sua validação (Figuras 36 e 37). Após representação de todos os modelos matemáticos obteve-se um desvio entre os pontos experimentais e os modelos, tendo-se realizado um ajustamento dos modelos com a adição de três pontos experimentais.

Após o desenvolvimento dos dois modelos matemáticos foi calculado o desvio relativo médio obtido pelos modelos em relação aos pontos experimentais. Os vedantes Nomaticorc® Select Green 100 obtiveram um desvio de 3,4 %, e os vedantes Nomaticorc® Reserva um desvio de 3,0 %. Os desvios relativos dos modelos em relação aos pontos experimentais após ajustes encontram-se apresentados no Anexo 3.

Os modelos preveem que após 12 meses de conservação as garrafas vedadas com vedantes Nomaticorc® Select Green 100 transmitem aproximadamente 3,5 mg de oxigénio, e as garrafas vedadas com vedantes Nomaticorc® Reserva transmitem 3,2 mg de oxigénio, utilizando o método da quimioluminescência.

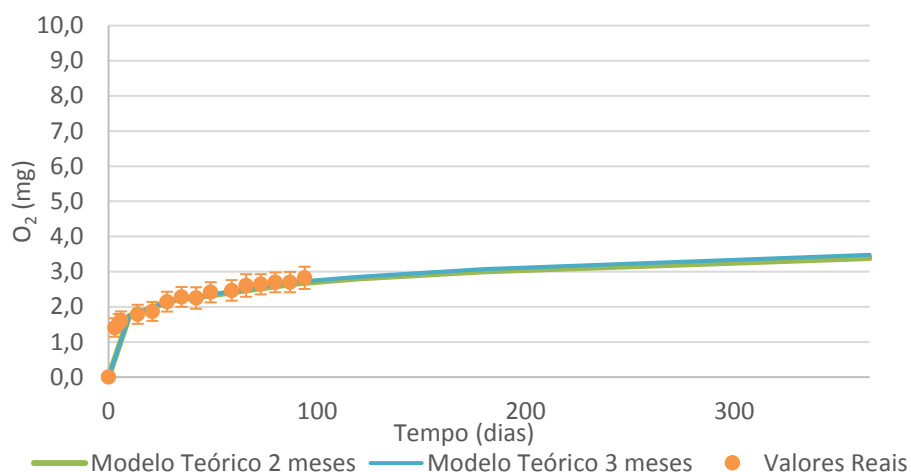


Figura 36 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através dos vedantes Nomacorc® Select Green 100, para o método de quimioluminescência.

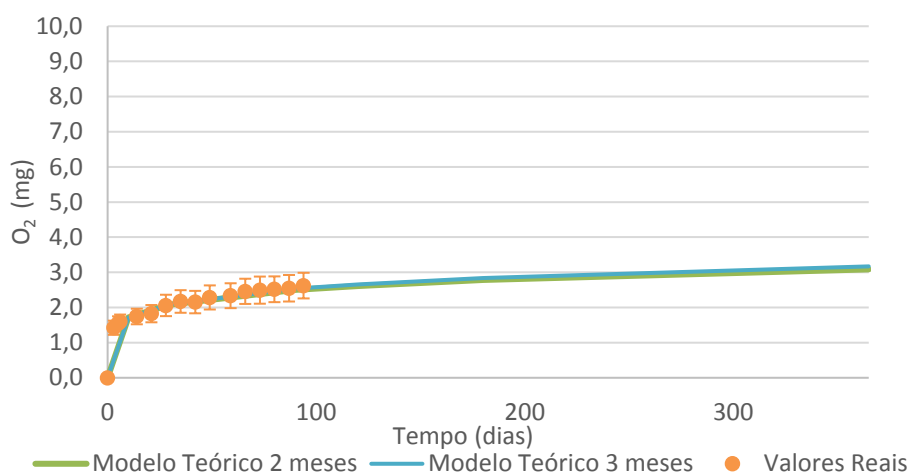


Figura 37 - Modelo matemático preditivo da cinética de transmissão de oxigénio através dos vedantes Nomacorc® Reserva, para o método de quimioluminescência.

4.1.3 Comparação da transmissão de oxigénio dos vedantes através de diferentes métodos

Após serem apresentados individualmente os resultados obtidos por cada método de medição, é importante comparar a transmissão de oxigénio obtida nos vários ensaios ao longo do tempo.

i. Transmissão de oxigénio de rolhas técnicas (CWINE e DIAM)

A cinética de transmissão de oxigénio das rolhas técnicas CWINE e DIAM foi caracterizada durante um intervalo de tempo diferente pelos métodos de colorimetria e de quimioluminescência, não sendo, portanto, possível comparar os valores obtidos pelos dois métodos no final do tempo de análise. Assim, comparou-se o comportamento dos vedantes ao

final de um ano, baseado na previsão feita pelos modelos teóricos, com os valores obtidos na literatura.

Apesar das diferenças que se observam entre os dois métodos, as rolhas CWINE apresentam em geral uma baixa transmissão de oxigénio, ao longo dos 365 dias (Figuras 38, 39 e 40). No ensaio avaliado pelo método de colorimetria observa-se uma fase inicial em que o oxigénio evolui de uma forma mais acentuada, devido em grande parte ao efeito do engarrafamento (Lopes *et al.*, 2005). Após essa fase a transmissão de oxigénio pelos dois métodos evolui de forma lenta. Os vedantes apresentam taxas de transmissão de oxigénio de 0,0079, 0,0078 e 0,0072 mg/dia para as rolhas CWINE 1, CWINE 2 e CWINE 3, após o primeiro ano de análise, quando analisados pelo método de colorimetria e 0,0060, 0,0052 e 0,0053 mg/dia quando analisados pela técnica da quimioluminescência. Comparando estes valores com os obtidos na literatura (0,0064 mg O₂/dia; 0,0039 mg O₂/dia; 0,0027 mg O₂/dia, respetivamente) (Trefinos, 2018), denota-se uma grande semelhança entre os valores obtidos, apesar dos resultados do método de colorimetria serem superiores aos restantes, uma vez que, não foi possível desprezar o efeito do engarrafamento tal como acontece no método da quimioluminescência. Além disso, a determinação da OTR torna uma cinética dita não linear, obtida através de medições experimentais, numa cinética linear, introduzindo erros nos valores obtidos.

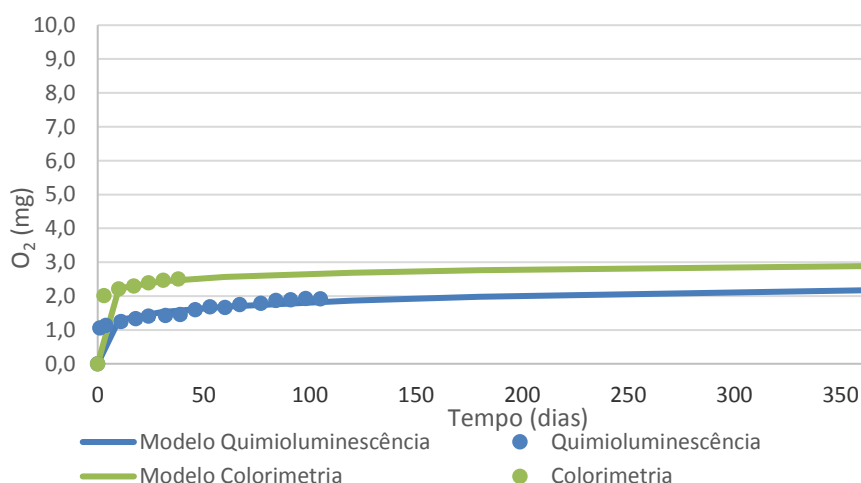


Figura 38 - Modelos matemáticos preditivos das cinéticas de transmissão de oxigénio do ensaio de colorimetria e de quimioluminescência, para as rolhas CWINE 1.

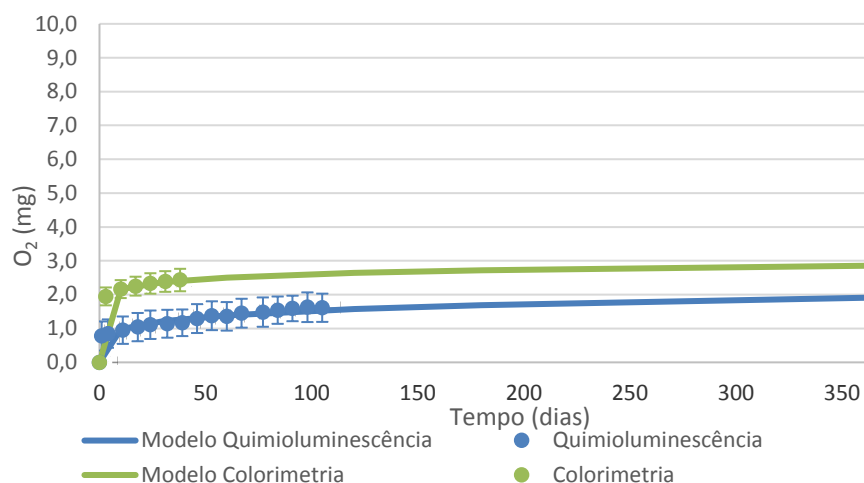


Figura 39 - Modelos matemáticos preditivos das cinéticas de transmissão de oxigénio do ensaio de colorimetria e de quimioluminescência, para as rolhas CWINE 2.

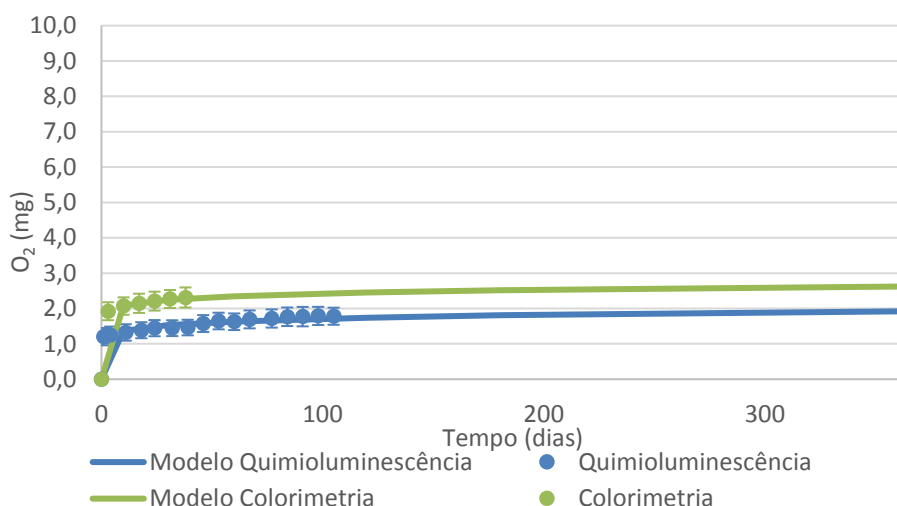


Figura 40 - Modelos matemáticos preditivos das cinéticas de transmissão de oxigénio do ensaio de colorimetria e de quimioluminescência, para as rolhas CWINE 3.

As rolhas DIAM obtém em geral um efeito contrário ao observado nos vedantes CWINE, ao longo dos 365 dias (Figuras 41, 42 e 43). Os resultados obtidos pelo método da quimioluminescência são em geral superiores aos obtidos pela técnica de colorimetria. Apesar de nos primeiros dias de análise os dois métodos serem muito semelhantes, quando o efeito do engarrafamento deixa de ser predominante, o método da quimioluminescência tende a prever uma maior entrada de oxigénio. Os vedantes apresentam assim taxas de transmissão de 0,0078, 0,0066 e 0,0065 mg/dia para as rolhas DIAM 5, DIAM 10 e DIAM 30, após o primeiro ano de análise, quando analisadas pelo método de colorimetria e 0,027, 0,012 e 0,0089 mg/dia quando analisadas pela técnica da quimioluminescência. Comparando com os valores obtidos com os encontrados na literatura (0,0027 a 0,011 mg O₂/dia; 0,00057 mg O₂/dia; 0,00057 mg O₂/dia, respetivamente, obtidos pelo método de Mocon) (DIAM, 2018), comprova-se que estes são

bastante menores que os obtidos por ambos os métodos. O método de *Mocon* utilizado pela *DIAM*[®] estuda a transmissão de oxigénio com recurso a medições a seco, daí obter resultados muito diferentes daqueles obtidos experimentalmente, por exemplo, pelo método da colorimetria que apresenta condições semelhantes a um caso real de engarrafamento de vinho (Mills, 2005).

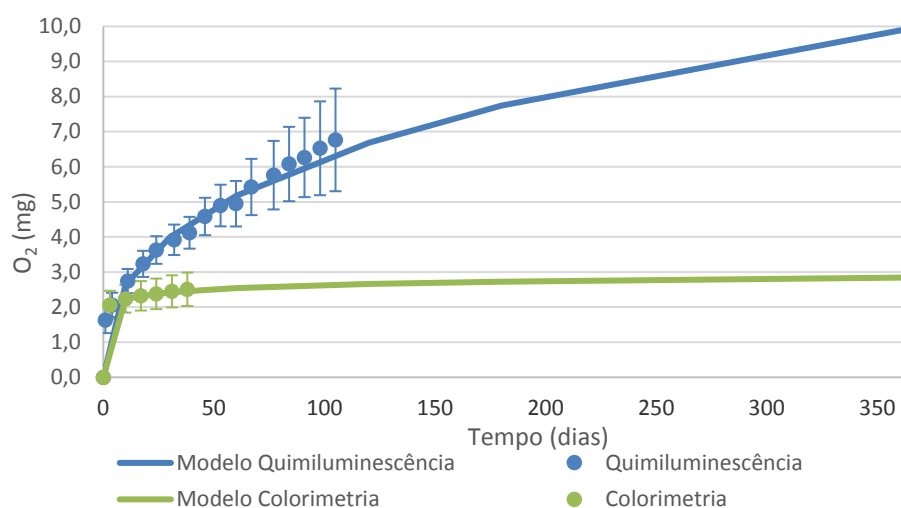


Figura 41 - Modelos matemáticos preditivos das cinéticas de transmissão de oxigénio do ensaio de colorimetria e de quimiluminescência, para as rolhas *DIAM* 5.

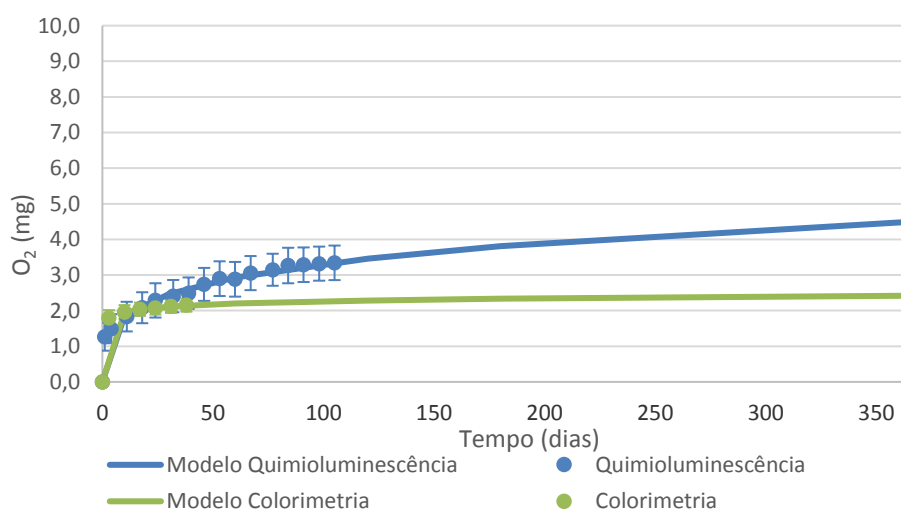


Figura 42 - Modelos matemáticos preditivos das cinéticas de transmissão de oxigénio do ensaio de colorimetria e de quimiluminescência, para as rolhas *DIAM* 10.

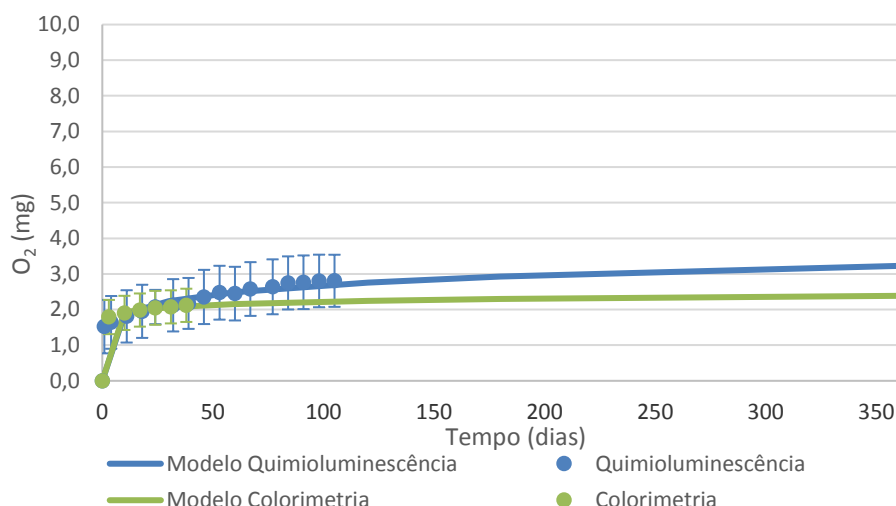


Figura 43 - Modelos matemáticos preditivos das cinéticas de transmissão de oxigénio do ensaio de colorimetria e de quimioluminescência, para as rolhas DIAM 30.

Comparando os dois métodos estudados, e apesar dos resultados terem sido diferentes para os vários vedantes, o método de colorimetria é aquele que apresenta os resultados mais constantes e dentro daquilo que seria de esperar. Esta técnica, apresenta as condições mais próximas daquelas que seriam obtidas num caso real de engarrafamento de vinho, contrariamente ao método da quimioluminescência que caracteriza a transmissão de oxigénio com recurso a garrafas vazias, podendo influenciar aquele que seria o efeito real no vinho.

Os resultados obtidos demonstram que, independentemente do método de análise utilizado, as rolhas CWINE apresentam um comportamento muito semelhante às DIAM.

ii. Transmissão de oxigénio de vedantes sintéticos Nomatic® (Select Green 100 e Reserva)

Como no ensaio utilizando vedantes sintéticos pelo método de colorimetria, não foi possível traçar os modelos preditivos das cinéticas ao fim de um ano, apenas foram comparados os resultados obtidos pelo método de quimioluminescência com os valores obtidos na literatura.

No final de 365 dias, os vedantes Nomatic® Select Green 100 transmitem 3,5 mg de oxigénio, valor bastante superior ao previsto pela empresa produtora destes vedantes, que indica obter-se no mesmo período uma transmissão de 1,2 mg de oxigénio. Após um ano, a previsão será que a quantidade de oxigénio no interior das garrafas aumente 0,4 mg/ano no segundo ano, e 0,3 mg/ano no terceiro. O que também não está de acordo com o 1,1 mg/ano após o primeiro ano, obtido na literatura (Nomatic, 2018).

No caso dos vedantes Nomatic® Reserva, os resultados demonstram que ao fim de um ano ocorre transmissão de 3,2 mg de oxigénio, enquanto que a literatura indica que no final do mesmo período a transmissão de oxigénio deveria ser de apenas 0,7 mg. Após o primeiro ano,

a quantidade de oxigénio em garrafa aumenta 0,3 mg/ano durante o segundo ano e 0,2 mg/ano durante o terceiro. Enquanto que a empresa Nomacorc® prevê o aumento de 0,6 mg/ano (Nomacorc, 2018).

Apesar do método de medição utilizado neste trabalho e pela Nomacorc® ser o mesmo, encontra-se uma grande diferença entre os valores obtidos experimentalmente e os fornecidos, uma vez que, os vedantes caracterizados contêm na sua formulação compostos *scavengers* de oxigénio e gás inerte, que consomem o oxigénio, reduzindo assim a sua entrada ao longo do primeiro ano. Após este período, os *scavengers* deixam de produzir o efeito pretendido, aumentando de forma significativa a transmissão de oxigénio. Como ao longo deste trabalho este efeito não foi tomado em consideração, os modelos matemáticos traçados não conseguem prever estes comportamentos.

4.2 Migração de oxigénio através da cortiça

Os pré-testes realizados no momento inicial do projeto em 2016 foram executados com o propósito de perceber se era possível detetar uma diferença de relação isotópica de $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, de forma a tirar conclusões no que diz respeito à transmissão de oxigénio através da cortiça.

No primeiro pré-teste realizado em janeiro de 2016 as amostras 1, 2 e 3 foram contaminadas com CO_2 na fase líquida e as restantes amostras serviram de controlo. Os resultados obtidos (Figura 44) demonstram que não existem diferenças de razão isotópica de oxigénio relativa entre as várias amostras.

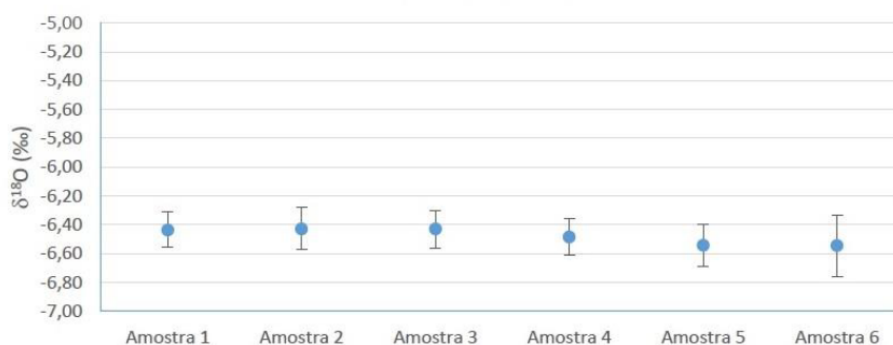


Figura 44 - Relação isotópica de oxigénio relativa nas amostras do pré-teste 1.

Dados os resultados obtidos no primeiro pré-teste, e de forma a entender se seria possível ocorrerem alterações caso fossem modificadas as condições de teste, foi realizado o segundo pré-teste em maio de 2016, no qual as amostras 1, 2 e 3 foram contaminadas durante um mês com CO_2 industrial e restantes amostras serviram de controlo. Os resultados (Figura 45) demonstram que as amostras armazenadas em contacto com o CO_2 apresentam uma relação isotópica de oxigénio relativa diferente das amostras controlo. Esta diferença pode ser

justificada através da existência de equilíbrio entre o CO_2 e o H_2O da amostra, havendo por isso uma troca de átomos de O (oxigénio) entre as duas moléculas.

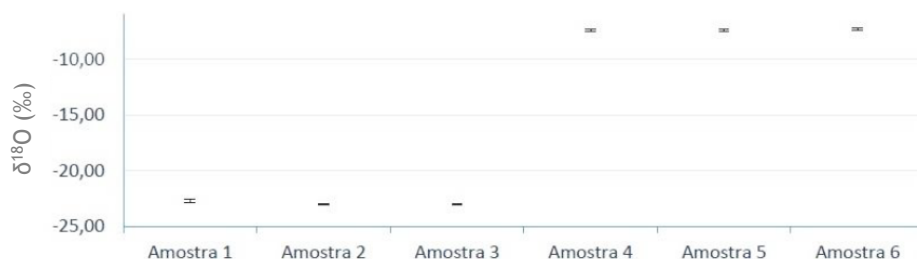


Figura 45 - Relação isotópica de oxigénio relativa nas amostras do pré-teste 2.

Após dois anos de conservação abriu-se o primeiro barril e foram analisados os valores de relação isotópica de oxigénio das amostras retiradas das garrafas, assim como das amostras que permaneceram abertas dentro do barril (O_2B) e das amostras controlo (O_2T), que não estiveram em contacto com o CO_2 . O barril analisado continha no seu interior nove garrafas vedadas com rolhas de cortiça natural (RN), oito garrafas com rolhas de champanhe de 2 discos (RC), três garrafas com vedantes sintéticos Nomacorc® (Nom) e três garrafas vedadas com cápsulas de rosca (SC). Os resultados (Figura 46) demonstram que não existem importantes diferenças de razão isotópica de oxigénio relativa entre as amostras retiradas das garrafas, sendo os valores obtidos semelhantes aos resultados das amostras controlo (O_2T).

Contrariamente, as amostras que foram armazenadas em contacto direto com o CO_2 apresentam uma relação isotópica de oxigénio diferente das restantes, demonstrando a troca de átomos de O (oxigénio) entre as moléculas de CO_2 e de H_2O .

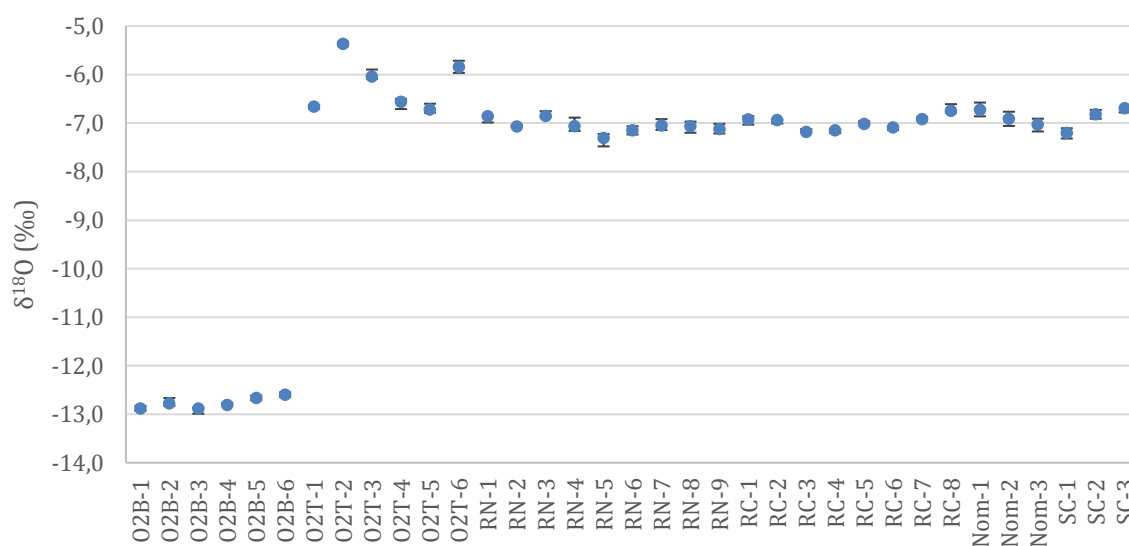


Figura 46 - Relação isotópica de oxigénio relativa nas amostras retiradas do primeiro barril e amostras controlo, após dois anos de conservação.

Os resultados obtidos neste ensaio não estão dentro daquilo que seria de esperar, uma vez que, as amostras em contacto com o CO₂ no interior do barril estiveram sob o mesmo ambiente saturado que as garrafas vedadas pelos diferentes vedantes. Daí deveria ter ocorrido migração de oxigénio, pelo menos por parte dos vedantes impermeáveis a gases, como os vedantes Nomatic®. Este resultado pode ser justificado pela falta de sensibilidade do aparelho de medição para os valores que foram obtidos, não sendo possível obter diferenças entre os vários vedantes.

Quando comparados estatisticamente os valores médios de relação isotópica de oxigénio relativa para os diferentes vedantes e amostras controlo (Figura 47), observa-se que o valor obtido pelas amostras em contacto com o CO₂ no interior do barril (O₂B) é estatisticamente diferente das restantes amostras (pertence a grupos estatísticos diferentes). Esta diferença acontece devido à transmissão de oxigénio nas amostras O₂B ter sido significativamente maior relativamente às restantes.

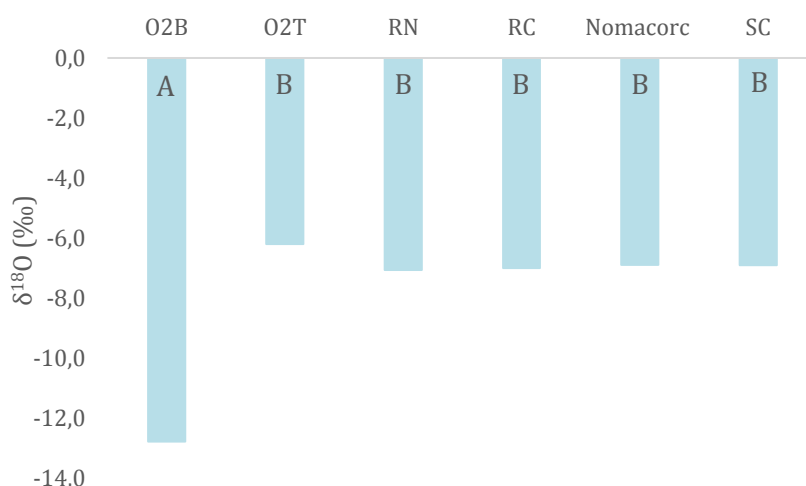


Figura 47 - Valores médios de relação isotópica de oxigénio relativa das amostras presentes no barril e das amostras de controlo (as mesmas letras [A e B] dentro de cada gama de relação isotópica de oxigénio indicam a inexistência de diferenças estatisticamente significativas).

De forma a obter melhores resultados na análise do próximo barril em 2020, vai ser testado um aumento de pressão de CO₂ no interior do barril, para uma pressão de 1,0 bar acima da pressão atmosférica, para que a migração de oxigénio através dos vedantes se dê de uma forma mais eficiente.

5 Conclusões

Através da comparação entre os métodos de medição utilizados para caraterizar a cinética de transmissão de oxigénio de vedantes de vinho, observou-se que existem diferenças significativas segundo a técnica utilizada, sendo o método colorimétrico aquele que obtém os menores valores de transmissão de oxigénio. A técnica da quimioluminescência apresenta em geral valores superiores àqueles que seriam de esperar por este tipo de vedantes, uma vez que, utiliza medições a seco, muito diferentes das condições reais de engarrafamento de vinho.

De forma a comparar os resultados obtidos desenvolveram-se modelos preditivos das cinéticas de transmissão de oxigénio através dos diferentes vedantes, utilizando o modelo de regressão não linear obtido pela equação: $y = P_{R1} + \frac{P_{R4} - P_{R1}}{1 + \frac{x}{P_{R2}}}$. Os modelos desenvolvidos ao fim de 3 meses estimam bem a transmissão de oxigénio ao longo de um grande período de tempo.

As rolhas CWINE, produzidas por uma empresa do Grupo Amorim, apresentam um comportamento muito semelhante ao obtido pelas rolhas DIAM, posicionando-se assim num mesmo segmento de produtos.

O estudo da viabilidade da adição de *scavengers* de oxigénio a rolhas de cortiça mostrou-se ineficiente, uma vez que, não se verificou um aumento da capacidade de retenção de oxigénio, em comparação com rolhas microaglomeradas sem adição de *scavengers*.

A caraterização das vias de entrada de oxigénio recorrendo à utilização de CO₂ industrial mostrou-se ineficaz, pois não existem importantes diferenças de razão isotópica de oxigénio entre as amostras retiradas de cada garrafa.

6 Avaliação do Trabalho Realizado

6.1 Objetivos Realizados

Os objetivos deste projeto consistiam na caracterização da cinética e dos mecanismos de transmissão de oxigénio através de diferentes vedantes de vinho presentes no mercado, utilizando os métodos de colorimetria e da quimioluminescência. Além disso, pretendia-se verificar a migração de oxigénio exógeno através de cortiça recorrendo à utilização de CO₂ industrial.

Após cinco meses de trabalho, foi possível caracterizar eficazmente a cinética de transmissão de oxigénio pelas técnicas de colorimetria e da quimioluminescência, e a respetiva comparação entre os métodos. A verificação da migração de oxigénio exógeno medida através da razão isotópica de oxigénio mostrou-se ineficiente, não sendo possível comparar os diferentes vedantes através dos resultados obtidos.

6.2 Outros Trabalhos Realizados

Apesar do tema do projeto estar relacionado com a cinética de transmissão de oxigénio através de vedantes de vinho, durante o tempo de estágio no departamento de I&D da A&I acompanharam-se outros trabalhos quer de rotina que de projetos de desenvolvimento a decorrerem na empresa.

Um dos trabalhos realizados ao longo dos cinco meses de estágio académico foi o controlo de TCA que é feito no departamento de I&D. Diariamente, o laboratório recebe entre 700 a 1000 amostras dos diferentes produtos de cortiça, oriundas das doze unidades industriais da A&I, para a análise de TCA. O procedimento de trabalho inclui todas as tarefas de preparação e análise de TCA desde a lavagem e etiquetagem de frascos, preparação da amostra a ser colocada no cromatógrafo (adição de cloreto de sódio, amostra e padrão interno), análise cromatográfica, através da combinação de microextração em fase sólida (SPME) com cromatografia gasosa (GC), por deteção de captura de eletrões (ECD) ou de espetrometria de massa (MS), até à quantificação da concentração de TCA em cada amostra.

Além disso, e ainda na temática do controlo de TCA, cooperou-se em projetos de erradicação de TCA, assim como na preparação de macerações de diversas amostras de rolhas de cortiça, na preparação de análises sensoriais, e no registo de todas as retas de calibração, intervenções preventivas e *backups* realizados pelos onze aparelhos de cromatografia existentes no departamento de I&D.

No âmbito do projeto da migração de oxigénio através de cortiça, cooperou-se também com o estudo da migração de *off-flavours* através de cortiça efetuados em simultâneo, no qual se analisou a contaminação de TBA e D₅-TCA nos diferentes vedantes e na solução presente nas garrafas.

6.3 Limitações e Trabalho Futuro

O fator que se tornou mais condicionante ao longo do projeto e que limitou de forma mais significativa os resultados obtidos foi o tempo disponível para a sua realização. Para este tipo de análise é de extrema importância ter em conta grandes períodos de tempo, de forma a obter modelos preditivos o mais próximos possível da realidade. Outro fator que teve uma grande influência nos resultados finais é o processo de engarrafamento, um dos principais responsáveis pela entrada de oxigénio, que por vezes foi ineficiente, e que obrigou à repetição de ensaios, prejudicando o tempo de análise.

Como trabalho futuro seria importante prosseguir os ensaios para perceber se os próximos pontos experimentais estão de acordo com os modelos matemáticos. Assim como, produzir novas rolhas com *scavengers* de oxigénio de forma a verificar os resultados obtidos neste ensaio, e pôr em prática o aumento de pressão de CO₂ nos barris, de maneira a obter melhores resultados no ensaio de migração de oxigénio exógeno através da cortiça.

6.4 Apreciação Final

A realização deste projeto contribuiu de uma forma positiva para a consolidação de conhecimentos relacionados com a temática da transmissão de oxigénio através de vedantes, assim como com a temática de cromatografia gasosa e o funcionamento de um laboratório de análises químicas. Além disso, possibilitou o primeiro contacto com o ambiente de trabalho profissional e com algumas das funções de um engenheiro químico.

Relativamente ao tema do projeto, foi um trabalho desafiante, que pôs em prática muitos conceitos aprendidos e que abrangeu uma área de extrema importância para a produção de rolhas de cortiça e para o vinho.

Referências

- Amorim & Irmãos S.A. *Manual de Acolhimento*. Edição Amorim & Irmãos, S.A. Santa Maria de Lamas, 2015.
- Amorim & Irmãos S.A. Unidade Negócios Rolhas. (2016). Acedido em 26 de fevereiro de 2018, Disponível em: <https://www.amorimcork.com/pt/amorim-irmaos-cork-stoppers-business-unit/>
- APCOR. Manual Técnico - Rolhas. (2015a). Acedido em 5 de março de 2018, Disponível em: http://www.apcor.pt/wpcontent/uploads/2016/01/ManualRolhas_PT_VF.pdf
- APCOR. Processo de Transformação: Descortiçamento. (2015b). Acedido em 1 de março de 2018, Disponível em: <https://www.apcor.pt/cortica/processo-de-transformacao/descortiçamento/>
- APCOR. Anuário de Cortiça. (2016). Acedido em 2 de março de 2018, Disponível em: http://www.apcor.pt/wp-content/uploads/2017/12/Boletim_Estatistico_APCOR_17_18.pdf
- Bates, J. A corking argument: special report wine closures. *Em The IWSR Drinks Record June*, 27-29 (2010).
- Brotto, L., Battistutta, F., Lara, T., Comuzzo, P., Zironi, R. Modified nondestructive colorimetric method to evaluate the variability of oxygen diffusion rate through wine bottle closures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(6), 3567-3572, 2010.
- Carmo, R. *Desenvolvimento de rolhas de cortiça com transmissão de oxigénio controlada*. Tese de Mestrado em Biotecnologia Alimentar, Universidade de Aveiro, Portugal, 2017.
- Cichello, S. A. Oxygen absorbers in food preservation: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4), 1889-1895, 2015.
- Cooksey, K. Oxygen Scavenging Packaging Systems. *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, 1-10, 2010.
- Corticeira Amorim. A Cortiça. (2015a). Acedido em 1 de março de 2018, Disponível em: <https://www.amorim.com/a-cortica/o-que-e/>
- Corticeira Amorim. A Cortiça: Características. (2015b). Acedido em 1 de março de 2018, Disponível em: <https://www.amorim.com/a-cortica/caracteristicas/>
- Corticeira Amorim. A Cortiça: Localização do Montado. (2015c). Acedido em 1 de março de 2018, Disponível em: <https://www.amorim.com/a-cortica/localizacao-do-montado/>
- Corticeira Amorim. Na Indústria Vinícola e Espirituosos. (2015d). Acedido em 5 de março de 2018, Disponível em: <https://www.amorim.com/porque-cortica/Na-Industria-Vinicola-e->

Espirituosos/36/

Corticeira Amorim. Quatro gerações, um destino: a excelência. (2015e). Acedido em 26 de fevereiro de 2018, Disponível em: <https://www.amorim.com/corticeira-amorim/grupo-amorim/apresentacao/>

Corticeira Amorim. Relatório Anual Consolidado 2017. (2018). Acedido em 29 de junho de 2018, Disponível em: https://www.amorim.com/xms/files/Investidores/5_Relatorio_e_Contas/2018_CASGPSRelatorioAnualConsolidado.pdf

DIAM. Cork Closures Manufacturing Process - Wine and Champagne - DIAM. (2018). Acedido em 22 de junho de 2018, Disponível em: <https://www.diam-closures.com/cork-closures-manufacturing-process-wine-and-champagne#process>

Diéval, J.-B., Vidal, S., Aagaard, O. Measurement of the oxygen transmission rate of co-extruded wine bottle closures using a luminescence-based technique. *Packaging and Technology and Science*, 24(May), 375-385, 2011.

Fortes, M. A., Rosa, M. E., Pereira, H. *A Cortiça*. Edição IST Press. Lisboa, 2004.

Godden, P., et al. Towards Offering Wine to the Consumer in Optical Condition - The Wine, The Closures and Other Packaging Variables: a review of AWRI research examining the changes that occur in wine after bottling. *Journal of Viticulture and Enology*, 1-9, 2005.

Huber, C., Nguyen, T.-A., Krause, C., Humele, H., Stangelmayer, A. Oxygen Ingress Measurement into PET Bottles using Optical-Chemical Sensor Technology. *Monatsschrift Für Brauwissenschaft*, 5-15, 2006.

Karbowiak, T., Gougeon, R. D., Alinc, J.-B., Brachais, L., Debeaufort, F., Voilley, A., Chassagne, D. Wine Oxidation and the Role of Cork. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(1), 20-52, 2009.

Kilmartin, P. A. The oxidation of red and white wines and its impact on wine aroma. *Chemistry in New Zealand*, (April), 1-5, 2009.

Lopes, P., Silva, M. A., Pons, A., Tominaga, T., Lavigne, V., Saucier, C., Darriet, P., Teissedre, P.-L., Dubourdieu, D. Impact of Oxygen Dissolved at Bottling and Transmitted through Closures on the Composition and Sensory Properties of a Sauvignon Blanc Wine during Bottle Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 10261-10270, 2009.

Lopes, P., Roseira, I., Cabral, M., Saucier, C., Darriet, P., Pierre-Louis, T., Dubourdieu, D. Impact of different closures on intrinsic sensory wine quality and consumer preferences. *Wine and Viticulture Journal*, 34-41, 2012.

Lopes, P., Saucier, C., Glories, Y. Nondestructive colorimetric method to determine the oxygen

diffusion rate through closures used in winemaking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(18), 6967-6973, 2005.

Lopes, P., Saucier, C., Teissedre, P., Glories, Y. Impact of Storage Position on Oxygen Ingress through Different Closures into Wine Bottles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 6741-6746, 2006.

Mills, N. Sealing themes and variations. *Wine Industry Journal*, 20(5), 52-58, 2005.

Nomacorc. The new Nomacorc green line. (2018). Acedido em 17 de março de 2018, Disponível em: https://view.publitas.com/nomacorc/brochure_nomacorc_greenline_en/page/1

O'Brien, V., Colby, C., Nygaard, M. Managing oxygen ingress at bottling. *Australian and New Zealand Wine Industry Journal*, 24(1), 24-29, 2009.

OIV. Compendium of International Methods of Analysis - Method for O18/O16 isotope ratio determination of water in wines and must, 1-10, 2009.

OxySense. Oxygen Measurement Techniques. (2014). Acedido em 5 de abril de 2018, Disponível em: <http://www.oxysense.com/non-invasive-oxygen-measurement-technology.html>

Pasteur, L. *Etudes Sur le Vin: Ses Maladies, Causes Qui les Provoquent, Procédés Nouveaux Pour les Conserver et Pour les Vieillir*. Edição I. Royale. Paris, France, 1873.

Ribéreau-Gayon, J. *Contribution a l'étude des oxydations et reductions dans les vins. Application a l'étude du vieillissement et des casses*. Edição Delmas, 2nd Ed. Bordeaux, France, 1933.

Risch, S. J. Food Packaging History and Innovations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(18), 8089-8092, 2009.

Silva, M. A., Julien, M., Jourdes, M., Teissedre, P. L. Impact of closures on wine post-bottling development: A review. *European Food Research and Technology*, 905-914, 2011.

Silva, S. P., Sabino, M. A., Fernandes, E. M., Correlo, V. M., Boesel, L. F., Reis, R. L. Cork: properties, capabilities and applications. *International Materials Reviews*, 50(6), 345-365, 2005.

Trefinos. CWINE - Compaq-Wine corks: Absolute sensory neutrality. (2018). Acedido em : 22 de junho de 2018, Disponível em: <http://compacwine.com/english/>

Vidal, J. C., Guillemat, B., Chayvialle, C. Oxygen Transmission Rate of Screwcaps By Chemiluminescence and Air / Capsule / Headspace / Acidified Water System. *Bouletín-OIV*, 84(962-964), 189-198, 2011.

Vinodress Espanha. Vinodress. (2012). Acedido em : 17 de março de 2018, Disponível em: <http://www.vinodress.es/products.php?sp+1>

Anexo 1 Dados para a Calibração do Equipamento de Quimioluminescência

Neste anexo apresentam-se os dados para a calibração do equipamento Fibox 3 LCD-trace, para os sensores PSt6, utilizado no método de quimioluminescência.

Tabela A.1.1 - Dados de calibração do equipamento de quimioluminescência, para os sensores PSt6.

	Sinal de Fase (°)	Gama de Validação (°)	Temperatura (°C)	Gama de Validação (°C)	Amplitude (μ V)
Calibração 0					
0% ar saturado	65,96	63,00 - 68,00	20,00	18,00 - 22,00	51895,30
2ª Calibração					
9,57% ar saturado	24,93	22,00 - 28,00	20,00	18,00 - 22,00	19138,10
Tempo de Resposta [t90]		< 60 s	Gama de Validação		< 60 s
Pressão Atmosférica (hPa)		965			

Anexo 2 Parâmetros Modelo Regressão Não Linear

O modelo de regressão linear representativo da cinética de transmissão de oxigénio através de vedantes está representado pela equação seguinte:

$$y = P_{R1} + \frac{P_{R4} - P_{R1}}{1 + \frac{x^{P_{R2}}}{P_{R3}}} \quad (3)$$

Nas Tabelas A.2.1 e A.2.2 apresentam-se os parâmetros obtidos nas equações de ajuste de cada tipo de rolha.

Tabela A.2.1 - Parâmetros das equações dos modelos de regressão não linear.

Colorimetria - Modelo teórico 1 mês				
	P_{R1}	P_{R2}	P_{R3}	P_{R4}
DIAM 5	5,693	0,119	371,247	$5,495 \times 10^{-5}$
DIAM 10	3,378	0,166	1,393	$1,156 \times 10^{-6}$
DIAM 30	4,811	0,108	418,731	$4,699 \times 10^{-5}$
CWINE 1	4,354	0,175	7,625	$7,666 \times 10^{-5}$
CWINE 2	5,394	0,144	160,097	$4,058 \times 10^{-5}$
CWINE 3	5,491	0,112	808,637	$6,341 \times 10^{-5}$
Quimioluminescência - Modelo teórico 2 meses				
DIAM 5	34,265	0,361	9123,611	$9,985 \times 10^{-2}$
DIAM 10	18,275	0,265	37196,922	$3,441 \times 10^{-2}$
DIAM 30	9,027	0,168	28928,170	$1,030 \times 10^{-2}$
CWINE 1	5,497	0,163	14127,832	$6,071 \times 10^{-3}$
CWINE 2	5,146	0,196	14896,965	$9,469 \times 10^{-3}$
CWINE 3	4,260	0,117	6083,866	$1,715 \times 10^{-3}$
Nomacorc® Select Green 100	9,289	0,254	3280,131	$8,590 \times 10^{-3}$
Nomacorc® Reserva	8,033	0,232	2836,970	$6,203 \times 10^{-3}$

Tabela A.2.2 - Parâmetros das equações dos modelos de regressão não linear.

Quimioluminescência - Modelo teórico 3 meses				
	P_{R1}	P_{R2}	P_{R3}	P_{R4}
DIAM 5	52,536	0,436	10988,865	$2,840 \times 10^{-1}$
DIAM 10	22,679	0,288	49330,297	$6,660 \times 10^{-2}$
DIAM 30	11,969	0,194	64832,772	$3,200 \times 10^{-2}$
CWINE 1	7,442	0,191	39697,354	$2,168 \times 10^{-2}$
CWINE 2	7,482	0,233	38739,828	$3,194 \times 10^{-2}$
CWINE 3	5,198	0,138	18012,812	$6,640 \times 10^{-3}$
Nomacorc® Select Green 100	10,087	0,259	4397,923	$1,318 \times 10^{-2}$
Nomacorc® Reserva	8,797	0,236	4201,653	$9,853 \times 10^{-3}$

Anexo 3 Desvio Relativo dos Modelos Teóricos em relação aos Pontos Experimentais

Na Tabela A.3.1 apresentam-se os desvios relativos dos modelos teóricos em relação aos pontos experimentais após ajuste, calculado através da equação seguinte:

$$y = \frac{\text{valor real} - \text{modelo teórico}}{\text{modelo teórico}} \times 100 \quad (3)$$

Tabela A.3.1 - Desvios relativos dos modelos teóricos em relação aos pontos experimentais para os diferentes vedantes.

	<i>Colorimetria Modelo 1 mês</i>	<i>Quimiluminescência Modelo 2 meses</i>	<i>Quimioluminescência Modelo 3 meses</i>
DIAM 5	1,9 %	12,5 %	5,7 %
DIAM 10	0,7 %	5,2 %	0,2 %
DIAM 30	1,1 %	9,8 %	4,4 %
CWINE 1	1,3 %	11,3 %	5,8 %
CWINE 2	0,5 %	12,6 %	6,2 %
CWINE 3	1,4 %	8,8 %	4,2 %
Nomacorc® Select Green 100	—	3,4 %	3,5 %
Nomacorc® Reserva	—	3,3 %	2,7 %

Anexo 4 Calibração do Método de Colorimetria

Neste anexo encontra-se representada a curva de calibração utilizada nos ensaios de vedantes sintéticos e rolhas técnicas contendo *scavengers* de oxigénio, pelo método de colorimetria.

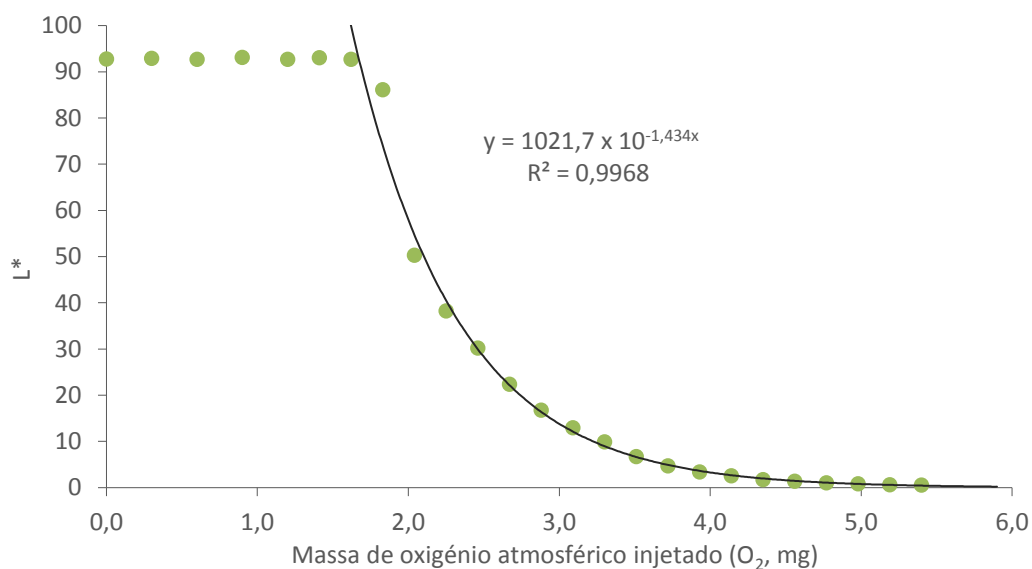


Figura A.4.1 - Curva de calibração do método de colorimetria utilizada no segundo ensaio de vedantes sintéticos e rolhas técnicas com scavengers de oxigénio.